REVISTA BRASILEIRA DE BIOLOGIA

VOLUME 20 SETEMBRO, 1960 NÚMERO 2

OCORRÊNCIA DE DUAS "RAÇAS" DE "ENTAMOEBA HISTOLYTICA" DISTINTAS PELO TAMANHO DOS CISTOS[1]

M. P. BARRETTO,
Faculdade de Medicina,
Ribeirão Prêto, S. Paulo

H. ZAGO FILHO e
Faculdade de Medicina,
Ribeirão Prêto, S. Paulo

G. AVELINO SILVA
Hospital Santa Tereza,
Ribeirão Prêto, S. Paulo

(Com 3 figuras no texto)

O primeiro autor a chamar a atenção para a variabilidade de tamanho dos cistos da *E. histolytica* foi UJIHARA (1914) que descreveu 5 "raças" com cistos medindo respectivamente 5,8 μ, 8,5 μ, 10,24 μ, 11,95 μ e 13,0 μ de diâmetro médio. Subseqüentemente WENYON & O'CONNOR (1917) afirmaram ser a espécie em questão constituída de "raças" distinguíveis pelo tamanho dos cistos. No mesmo ano, DOBELL & JEPPS (1917), trabalhando independentemente e estudando 200 pacientes, chegaram à mesma conclusão. Logo em seguida, êstes autores (DOBELL & JEPPS, 1918) selecionaram 7 casos de amebíase e medindo 500 cistos eliminados por cada paciente, concluiram pela existência de pelo menos 5 "raças" cujos diâmetros apresentavam freqüências máximas (modas) nos valores correspondentes a 6,0 μ, 7,5 μ, 10,0 μ, 12,0 μ e 13,5 μ respectivamente. Logo depois SMITH (1918), medindo 1000 cistos eliminados por 30 pacientes, obteve resultados tais que o levaram a duvidar da existência de mais de duas ou possìvelmente três "raças" diversas. DOBELL (1919), criticando o método usado por êste autor, reiterou a opinião exposta em seus trabalhos anteriores (DOBELL & JEPPS, 1917, 1918). SMITH (1919) baseado em dados adicionais afirmou não ter motivos para modificar suas conclusões anteriores.

Autores subseqüentes em geral aceitaram a existência de "raças" distintas da *E. histolytica*, mas NÖLLER (1921), BRUMPT (1928) e CUNHA & MUNIZ (1929), entre outros, admitiram a existência de pelo menos duas espécies diversas: uma produtora de cistos grandes, a *E. histolytica* Schaudinn, 1903 *(E. dysen-*

[1] Recebido para publicação a 10 de maio de 1960.

Trabalho do Departamento de Parasitologia (Diretor: Prof. M. P. BARRETTO), Faculdade de Medicina e do Hospital Santa Tereza (Responsável: Dr. ODAIR DE OLIVEIRA), Ribeirão Prêto, SP.

teriae Councilman & Lafleur, 1891, *E. tetragena* Viereck, 1907), e outra produtora de cistos pequenos, a *E. hartmanni* Prowazeck, 1912 (*E. minuta* Woodcock & Penfold, 1916; *E. tenuis* Kuenen & Swellengrebell, 1917; *E. minutissima* Brug, 1917).

Sapero, Hakansson & Louttit (1942), revendo os dados da literatura e estudando 2.995 cistos eliminados por 283 indivíduos, conseguiram reunir 7.495 medidas de cistos provenientes de 320 casos. A análise estatística dêste material forneceu-lhes prova convincente da existência de duas raças diversas da *E. histolytica* distinguíveis pelo tamanho dos cistos: uma com diâmetro médio de 7,09 ± 0,937 μ e outra com diâmetro médio de 11,48 ± 1,504 μ. Embora haja superposição de medidas nos limites entre as duas raças, esta superposição é pequena, sendo de 4,9% para a grande e 5,5% para a pequena. Por outro lado, verificaram que as médias obtidas em 99 casos individuais de infecção simples formam duas séries separadas por um intervalo que vai de 7,74 μ, maior média encontrada para amostras da raça pequena, 9,85 μ, menor média obtida em amostras da raça grande. Finalmente, a média de cada amostra individual não difere das médias das outras amostras da mesma série, tanto nos casos de infecção pela raça pequena como nos casos de infecção pela raça grande, mas há diferenças significativas entre cada média individual de uma série e qualquer outra média individual da outra série. Estabeleceram Sapero, Hakansson & Louttit (1942) como limite divisório prático entre as duas raças o diâmetro de 10 μ para os cistos vivos e de 9 μ para os cistos fixados pelo Schaudinn, corados pela hematoxilina férrica e montados em bálsamo. Por outro lado, confirmaram a existência de casos de infecção do mesmo indivíduo pelas duas raças, observadas por Dobell & Jepps (1918).

Logo depois, Amaral (1944), procurando estudar o problema entre nós, mediu 933 cistos eliminados por 134 indivíduos, o que dá a média de 6,9 cistos por amostra. Mas o número de cistos medidos, pelo menos na maioria dos casos, foi muito pequeno para permitir conclusão segura. Assim mesmo, o autor citado, projetando seus resultados em gráfico, obteve uma curva bimodal, com pequena elevação ao nível de $x = 10\,\mu$ e outra maior ao nível de $x = 13\,\mu$, com um mínimo de $x = 11\,\mu$. Concluiu que, entre nós, predomina a raça de cistos grandes, com a ressalva de que seus resultados poderiam ter sido diferentes se houvesse medido maior número de cistos pequenos (dos 933 estudados apenas 186 mediam de 5 a 10 μ). Comparando as médias das amostras individuais em 43 casos, em cujas fezes mediu mais de 10 cistos, Amaral (1944) verificou: 5 amostras tendo até 9 μ de diâmetro médio, uma tendo 10,8 μ e as restantes com mais de 11 μ. Infelizmente, não apenas o número de cistos medidos em cada caso foi pequeno, como também o próprio número de casos estudados foi insuficiente, daí resultando conclusões não significativas.

Posteriormente, MILLER & CHOQUETTE (1947) estudaram a freqüência das duas raças entre meninos e adultos do sexo masculino, em duas instituições do Canadá. No primeiro grupo observaram 26,5% de infecção pela raça grande, 17,5% pela raça pequena e 5,5% de infecções mixtas. Entre os adultos a prevalência foi de 8,5%, 13,0% e 1,0%, respectivamente.

Mais tarde, o problema das raças da *E. histolytica* foi abordado, na Itália, por BUCCO & CHIEFFI (1954) que mediram um total de 3.965 cistos provenientes de 69 pacientes, mas, infelizmente, não apresentam dados numéricos detalhados. Assinalam, contudo, que na curva de distribuição que obtiveram há uma diminuição da freqüência dos valores compreendidos entre 9 e 11 μ, o que lhes permite concordar com SAPERO, HAKANSSON & LOUTTIT (1924). Por outro lado, aceitando como limite entre as duas raças o diâmetro igual a 10 μ, no caso do exame a fresco dos cistos, referem que seus pacientes se apresentavam parasitados pela raça pequena em 37,7% dos casos, pela raça grande em 59,4% dos casos e pelas duas raças em apenas 2,8% dos casos.

MILLER (1958), em Washington, estudou 60 casos de amebíase, verificando 32 ou 53,33% parasitados pela raça pequena, 27 ou 45,00% infectados pela raça grande e apenas um ou 1,66% albergando ambas as raças.

FAUST (1958) em Cali, Colômbia, estudou 38 casos de parasitismo pela raça pequena e 108 pela raça grande. Entre os primeiros observou cistos com diâmetro variando de 4,14 μ a 11,5 μ e médias das amostras individuais oscilando de 5,33 μ a 8,9 μ. Entre os parasitados pela raça grande a variação de diâmetro dos cistos foi de 8,7 μ a 16,3 μ e a das médias das amostras individuais foi de 11,0 μ a 13,7 μ. Assinala FAUST (1958) que, tomando por base apenas as dimensões dos cistos, com freqüência é difícil a separação das duas raças da *E. histolytica*. Isto porque, se os diâmetros médios da maioria das amostras da raça pequena diferem significativamente dos das amostras da raça grande, há considerável superposição entre os valores maiores da primeira e os valores menores da segunda. Apesar disto, diz êste autor que seus resultados coincidem inteiramente com os de SAPERO, HAKANSSON & LOUTTIT (1942). Tanto quanto se pode julgar pelos dados obtidos em 14 indivíduos parasitados pela raça pequena e 18 infectados pela raça grande e apresentados com maiores detalhes, a conclusão de FAUST (1958) é válida. Todavia, em alguns casos o número de cistos medidos foi muito pequeno (menos de 30) e, por outro lado, os valores individuais obtidos em todos os casos estudados não são apresentados, de modo que se não pode fazer uma análise estatística mais elaborada. FAUST (1958) assinala ainda que, dos 228 indivíduos estudados, 19, isto é, 8,33% dos casos eram portadores de infecção pelas duas raças, 29 ou 12,72% eram parasitados pela raça pequena e 180 ou 78,95% eram infectados pela raça grande.

Procurando investigar o problema das raças da *E. histolytica* em grupo de pacientes em que estudávamos as lesões retossigmoidianas observadas durante a endoscopia, obtivemos os resultados que abaixo relatamos.

MATERIAL E MÉTODOS

O material humano com que trabalhamos consta de 242 casos de amebíase, na sua quase totalidade portadores assintomáticos ou casos crônicos oligossintomáticos, observados entre 420 alienados internos do Hospital Santa Teresa do Departamento de Assistência aos Psicopatas, localizado nas proximidades de Ribeirão Prêto. Escolhemos êste grupo de indivíduos porque nêle havia uma alta prevalência da amebíase (57,62%), condicionada pelas facilidades de transmissão, e porque em virtude disto esperamos encontrar maior homogeneidade nas amostras do parasita; assim sendo, qualquer diferença observada teria maior expressão.

Êstes pacientes foram submetidos a uma retossigmoidoscopia e as fezes presentes nas porções terminais do intestino foram colhidas, transportadas para o laboratório e examinadas dentro do prazo máximo de duas horas. O exame coprológico foi feito pelo método da centrífugo-flutuação no sulfato de zinco, de FAUST e cols. (1939) e os cistos obtidos foram corados pelo lugol adicionado de 0,1% de ácido acético para evitar a retração, como aconselha FAUST (1958). As medidas dos cistos foram feitas imediatamente após a adição do lugol, usando-se um microscópio cujo sistema ótico permite obter intervalos de 0,75. Em cada um dos 161 casos estudados mais detalhadamente medimos um mínimo de 30 cistos. Tôdas as vêzes em que se evidenciava ou esboçava uma distribuição bimodal, indicando a presença de duas raças, medimos 40 ou mais cistos com diâmetro até 9,75 μ e igual número com diâmetro igual ou superior a 10,50 μ, isto porque estudos preliminares de mais de 300 cistos, confirmando as verificações de SAPERO, HAKANSSON & LOUTTIT (1942), nos revelaram ser o valor 10 μ o limite prático para a separação das duas raças eventualmente presentes. Finalmente, devemos assinalar que, para a obtenção das medidas, só utilizamos cistos arredondados e perfeitos, isto é, cistos que permitissem diagnóstico seguro e mensuração precisa do diâmetro. Quando uma preparação não fornecia número suficiente de cistos, utilizávamos novas preparações, até que o número desejado de medidas fôsse atingido.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No quadro I apresentamos os caracteres das amostras individuais em 129 casos nos quais os diâmetros dos cistos tinham distribuição unimodal, isto indicando a presença de uma só população ou raça: o número de cistos medidos (n), a média ($\bar{x}$), o desvio padrão (s) e o intervalo de confiança da média (ic = 2s). Preferimos apresentar os intervalos de confiança das médias em

vez dos limites de variação observados e o coeficiente de variabilidade, porque aquêles caracterizam melhor as amostras . Na fig. 1 são projetadas as médias individuais e respectivos intervalos de confiança, mas para simplificar suprimimos os casos de ordem par, com exceção do 58.º.

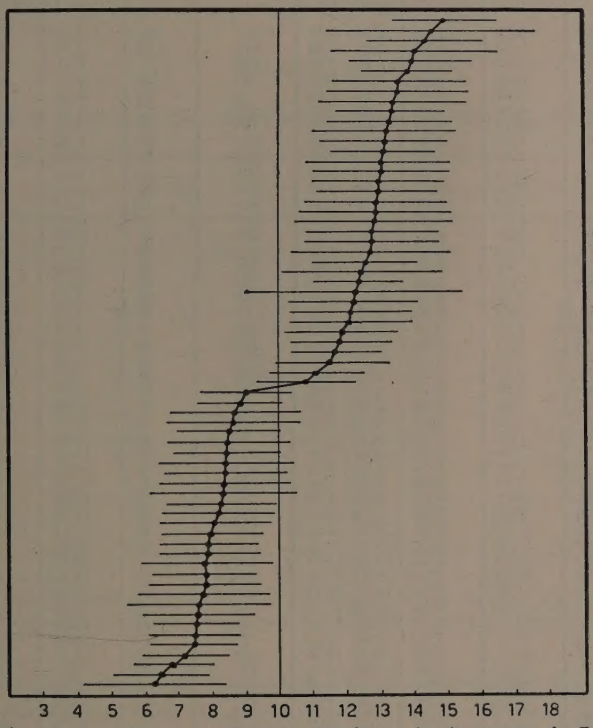


Fig. 1 — Diâmetro dos cistos em μ. Caracteres biométricos de 67 amostras de *E. histolytica:* cada linha horizontal representa o intervalo de confiança (ic = 2s) da média, expressa em μ, e a linha ascendente passa pelas médias das amostras individuais.

O exame dêste quadro e do gráfico mostra que existem duas séries de médias: uma que vai de $6{,}28 \pm 1{,}06$ μ a $9{,}02 \pm 0{,}70$ μ e referente a 57 casos, e outra que vai de $10{,}82 \pm 0{,}74$ μ a $14{,}86 \pm 0{,}79$ μ e referente a 72 casos. Entre as duas séries fica, pois, um intervalo que vai de $\bar{x} = 9{,}02 \pm 0{,}70$ μ e $\bar{x} = 10{,}82 \pm 0{,}74$ μ e estas duas médias diferem significativamente, sendo $t = 10{,}34$, isto é, muito superior ao correspondente ao nível de significância de 0,01 que, para $v = 40 + 32 + 2 = 70$ graus de liberdade, é $t = 2{,}65$.

As médias de cada série não diferem entre si, mas cada média individual de uma série é significativamente diferente de qualquer das médias individuais da outra série.

Nossos resultados indicam, assim, que existem duas raças de *E. histolytica* e apenas duas, distinguíveis pelo diâmetro dos cistos; êles estão, neste parti-

QUADRO I

Caracteres biométricos das amostras individuais da E. histolytica em 129 casos

Caso	N	$\bar{X}$	S	I.C.	Caso	N	$\bar{X}$	S	I.C.
19	38	6,28	1,06	4,16– 8,40	240	35	8,10	0,83	6,44– 9,76
148	38	6,34	0,67	5,00– 7,68	110	35	8,10	0,94	6,22– 9,98
6	38	6,49	0,72	5,05– 7,93	258	37	8,21	0,85	6,51– 9,91
170	35	6,66	1,07	4,52– 8,80	30	36	8,27	0,66	6,95– 9,59
60	35	6,84	0,60	5,64– 8,04	9	36	8,29	0,82	6,65– 9,93
53	42	6,88	0,50	5,88– 7,88	288	37	8,31	1,08	6,15–10,47
63	40	7,22	0,67	5,88– 8,56	261	50	8,34	1,09	6,16–10,52
49	36	7,31	0,94	5,43– 9,19	256	36	8,35	0,97	6,41–10,29
138	33	7,46	0,65	6,16– 8,76	207	33	8,36	0,98	6,40–10,32
208	31	7,48	1,19	5,10– 9,86	239	35	8,36	1,08	6,20–10,52
102	35	7,50	0,66	6,18– 8,82	273	35	8,40	0,91	6,58–10,22
137	38	7,50	0,67	6,16– 8,84	259	43	8,41	0,99	6,43–10,39
176	33	7,52	0,64	6,24– 8,80	257	35	8,42	1,01	6,40–10,44
152	37	7,56	0,67	6,22– 8,90	236	40	8,42	0,89	6,64–10,20
183	33	7,59	0,83	5,93– 9,25	219	38	8,43	0,79	6,85–10,01
256	36	7,62	0,97	5,68– 9,56	250	36	8,46	1,02	6,42–10,50
199	38	7,62	1,06	5,50– 9,74	267	35	8,49	0,90	6,69–10,29
82	37	7,70	0,76	6,18– 9,22	243	33	8,50	0,86	6,78–10,22
56	31	7,74	0,98	5,78– 9,70	18	39	8,52	0,78	6,98–10,08
167	40	7,76	0,84	5,98– 9,54	280	33	8,61	0,80	7,01–10,21
142	40	7,78	0,83	6,12– 9,44	290	35	8,64	1,00	6,64–10,64
28	36	7,79	0,63	6,53– 9,04	297	33	8,68	0,96	6,76–10,60
203	35	7,79	0,79	6,21– 9,37	270	39	8,69	0,97	6,75–10,63
14	30	7,83	0,78	6,27– 9,39	275	32	8,74	0,91	6,92–10,56
193	33	7,84	0,98	5,88– 9,80	213	32	8,86	0,63	7,60–10,12
48	30	7,88	0,87	6,14– 9,62	65	32	9,02	0,70	7,62–10,42
108	36	7,90	0,75	6,40– 9,40	32	40	10,82	0,74	9,34–12,30
181	32	7,90	0,83	6,24– 9,56	125	39	11,04	0,69	9,66–12,42
71	40	7,91	0,72	6,47– 9,35	7	35	11,13	0,72	9,69–12,57
175	37	7,93	0,80	6,33– 9,53	242	34	11,58	0,83	9,92–13,24
215	33	8,00	0,74	6,52– 9,48	26	40	11,59	0,85	9,88–13,30
94	36	8,08	0,88	6,32– 9,84	154	38	11,65	0,67	10,31–12,99
12	35	11,70	0,67	10,36–13,04	265	33	12,91	1,09	10,73–15,09
132	40	11,78	0,74	10,30–13,26	42	37	12,95	0,98	10,99–14,91
114	34	11,82	0,76	10,30–13,34	197	35	12,99	1,08	10,83–15,15
73	40	11,83	0,79	10,25–13,41	206	32	13,01	1,01	10,99–15,03
97	33	11,87	0,84	10,19–13,55	209	34	13,02	0,84	11,34–14,70
69	35	11,98	0,88	10,22–13,74	50	46	13,03	1,05	10,83–15,13
75	35	12,11	0,93	10,25–13,97	149	39	13,06	1,11	10,84–15,28
76	35	12,11	1,01	10,09–14,13	25	33	13,09	0,73	11,53–14,65
249	37	12,12	0,93	10,26–13,98	105	35	13,11	0,74	11,63–14,59
163	39	12,17	0,99	10,19–14,15	111	35	13,11	0,95	11,21–15,01
271	39	12,21	0,97	10,27–14,15	245	35	13,16	0,88	11,40–14,92
260	30	12,23	1,01	10,21–14,25	226	42	13,18	1,06	11,06–15,30
5	38	12,28	1,62	9,04–15,52	124	32	13,24	1,09	11,06–15,42
85	33	12,34	1,01	10,32–14,36	107	33	13,26	0,92	11,41–15,10
79	30	12,35	0,67	11,01–13,69	200	32	13,27	1,05	11,17–15,37
161	40	12,41	0,97	10,47–14,35	196	32	13,21	0,83	11,65–14,97
78	37	12,45	1,18	10,09–14,81	41	37	13,38	0,71	11,96–14,80
254	36	12,45	1,19	10,07–14,83	91	37	13,40	1,11	11,18–15,62
66	40	12,51	0,77	10,97–14,05	59	35	13,50	1,04	11,42–15,58
192	33	12,61	1,29	10,03–15,19	35	35	13,52	1,05	11,42–15,62
90	38	12,71	1,18	10,35–15,07	87	35	13,54	0,96	11,62–15,46
157	33	12,73	0,67	11,39–14,07	47	33	13,55	0,99	11,57–15,53
188	36	12,73	1,00	10,73–14,73	128	39	13,71	0,99	11,73–15,69
234	30	12,75	0,96	10,83–14,67	153	32	13,81	0,68	12,45–15,17
22	32	12,77	0,98	10,81–14,73	225	33	13,82	1,09	11,64–16,00
39	38	12,83	1,00	10,83–14,83	61	39	13,94	0,91	12,12–15,75
233	36	12,83	1,17	10,49–15,17	135	39	13,94	1,08	11,78–16,10
216	32	12,84	1,05	10,74–14,94	89	37	14,01	1,23	11,55–16,47
202	33	12,84	1,14	10,56–15,12	136	37	14,20	1,01	11,99–16,03
45	34	12,86	0,67	11,52–14,20	186	30	14,30	0,86	12,58–16,02
123	33	12,86	1,05	10,76–14,96	55	36	14,38	0,81	12,76–16,00
221	40	12,88	1,11	10,66–15,10	211	37	14,49	1,55	11,39–17,59
119	37	12,91	0,90	11,11–14,71	159	38	14,86	0,79	13,28–16,44

cular, inteiramente de acôrdo com os obtidos por SAPERO, HAKANSSON & LOUTTIT (1942).

Fazendo uma distribuição dos diâmetros dos cistos individuais provenientes dos 57 casos da série de amostras da raça pequena e dos 72 casos da série de

amostras da raça grande, sem levar em conta os indivíduos de onde aquêles cistos provinham, obtivemos os resultados apresentados no quadro II e fig. 2.

A análise dêstes resultados nos fornecem os caracteres biométricos das duas raças: raça pequena: $\bar{x} = 7{,}91$ μ, $s = 1{,}05$ μ e ic = 5,81-10,01 μ; raça grande: $\bar{x} = 12{,}81$ μ, $s = 1{,}26$ μ e ic = 10,29-15,33 μ.

QUADRO II

Distribuição de freqüência dos diâmetros dos cistos, nos casos de infecção simples

Raça pequena (57 casos)			Raça grande (72 casos)		
x	f	%	x	f	%
			9,00	3	0,11
5,25	21	1,02	9,75	22	0,85
6,00	122	5,95	10,50	120	4,66
6,75	322	15,71	11,25	312	12,17
7,50	530	25,85	12,00	501	19,46
8,25	565	27,56	12,75	592	22,99
9,00	315	15,37	13,50	513	19,92
9,75	148	7,22	14,25	330	12,81
10,50	24	1,17	15,00	134	5,20
11,25	3	0,15	15,75	35	1,36
			16,50	11	0,43
			17,25	2	0,08
N = 2.050; $\bar{x}$ = 7,91μ s = 1,05; ic = 5,81—10,01μ			N = 2.575; $\bar{x}$ = 12,81μ s = 1,26; ic = 10,29—15,33μ		

Por outro lado, os dados do quadro II e do gráfico da fig. 2 sugerem a hipótese de normalidade das duas distribuições. A fim de testar esta hipótese, calculamos as freqüências esperadas para distribuições normais com médias e desvios padrões iguais, respectivamente, a $7{,}91 \pm 1{,}05$ μ e $12{,}81 \pm 1{,}26$ μ. Aplicando o teste χ^2 às freqüências reais e esperadas obtivemos, para a raça pequena $\chi^2 = 7{,}74$, resultado êste inferior ao correspondente ao nível de 0,05 que é $\chi^2 = 14{,}07$, para 7 graus de liberdade; para a raça grande obtivemos $\chi^2 = 12{,}17$, também inferior ao correspondente ao mesmo nível de significância que é $\chi^2 = 18{,}31$, para 10 graus de liberdade. Assim, pois, as freqüências reais não diferem das teóricas e podemos considerar nossas distribuições como normais.

Isto nos vai permitir estabelecer um limite para a separação das duas raças. O melhor critério para esta separação é, evidentemente, aquêle que permite êrro de classificação igual para as duas distribuições atrás estudadas. Como estas são normais, procuramos um ponto t na normal N (0,1) tal que correspondesse ao mesmo valor de x, dando áreas iguais à esquerda dêste valor, naquelas distribuições. O ponto determinado corresponde ao valor

$x = 10{,}14$ μ, dando um êrro de classificação de 1,7% em cada caso, isto é, 1,7% de cistos pequenos incluídos na raça grande e 1,7% de cistos grandes incluídos na raça pequena. Êste êrro é, como se vê, muito pequeno. Assim, podemos tomar o valor 10,14 μ como o limite de separação das duas raças e, na prática, podemos adotar o valor 10 μ como êste limite. Tal resultado está de acôrdo com o de SAPERO, HAKANSSON & LOUTTIT (1942).

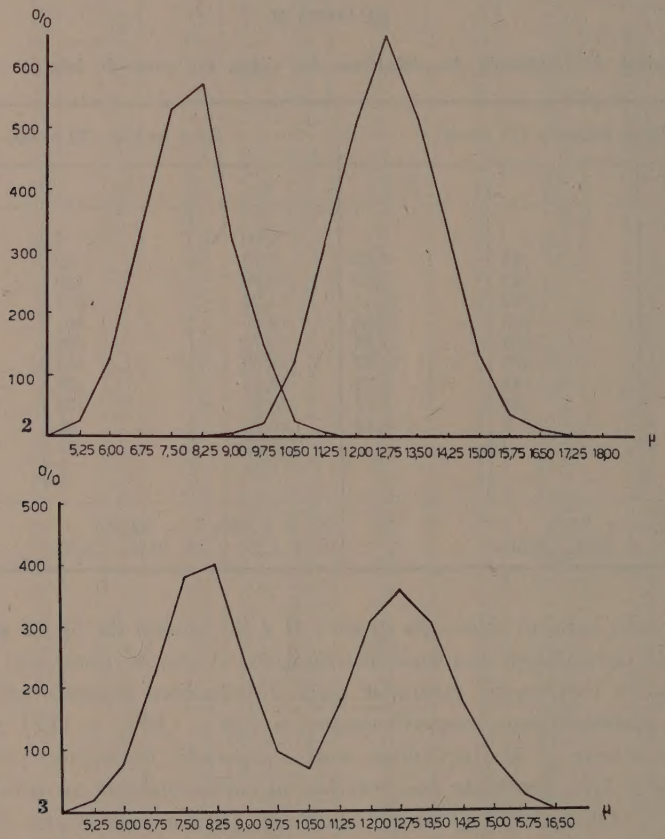


Fig. 2 — Distribuição dos cistos, seguindo o diâmetro, expresso em μ, em 57 casos da "raça" pequena e 72 casos da "raça" grande da *E. histolytica*. Fig. 3 — Distribuição dos cistos, segundo o diâmetro, expresso em μ, em 32 casos de infecção simultânea pelas duas "raças" da *E. histolytica*.

Tomando o valor 10 μ como limite prático para a separação das duas raças, verifica-se, em um certo número de casos, superposição de medidas. Assim, o exame do quadro I mostra que em 25 casos da série de 57 parasitados pela raça pequena o intervalo de confiança superior ultrapassou aquêle limite, enquanto que em 6 casos da série de 72 infectados pela raça grande o intervalo de confiança inferior ficou aquém do mesmo limite. Esta superposição observada em 31 sôbre 129 casos pode parecer considerável, porém ela é dada apenas

por um pequeno número de cistos situados nos extremos das distribuições, de modo que, em realidade, a superposição é pequena.

De fato, o exame do quadro II mostra que apenas 27 sôbre 2.050 cistos da raça pequena, ou sejam 1,32%, ultrapassam o limite de 10 μ, ao passo que sòmente 25 sôbre 2.575 cistos da raça grande, ou sejam 0,97%, apresentam diâmetro inferior a 10 μ. Aliás, estas percentagens de superposição observadas na prática não diferem significativamente daquelas esperadas que são de 2,33% e 1,29% respectivamente. As percentagens de superposição que obtivemos são um pouco inferiores àquelas verificadas por SAPERO, HAKANSSON & LOUTTIT (1942), isto é, 4,9% para a raça pequena e 5,5% para a raça grande. Tais diferenças não são, porém, significativas, devendo correr por conta de flutuação de amostra. Mais uma vez nossos resultados estão de acôrdo com os dos autores citados, mas em desacôrdo com os de FAUST (1958) que assinala considerável superposição de medidas do seu material da Colômbia. Talvez a discrepância entre nossos dados e os de FAUST (1958) se deva à maior homogeneidade de nosso material.

Os resultados acima apresentados vão nos permitir agora analisar os 32 casos de infecção mixta ou pelas duas raças, que estudamos. Como já dissemos, tomamos o valor 10 μ como limite de separação entre as duas raças e consideramos como pertencentes à raça pequena todos os cistos com diâmetro até 10 μ e como pertencentes à raça grande todos os cistos com diâmetro superior àquele valor, cometendo, com isto, um êrro muito pequeno.

Fazendo a distribuição dos diâmetros dos cistos individuais, sem levar em consideração a amostra, isto é, o indivíduo de que provieram aquêles cistos, obtivemos os dados apresentados no quadro III e fig. 3.

QUADRO III

Distribuição de freqüência dos cistos segundo o diâmetro, nos casos de infecção mixta

x	f	%	Parâmetros da distribuição
5,25	17	1,19	
6,00	75	5,26	
6,75	219	15,35	N = 1.427
7,50	381	26,70	$\bar{x}$ = 7,81μ
8,25	399	27,96	s = 0,82μ
9,00	238	16,68	ic = 6,17 – 9,45μ
9,75	98	6,87	
10,50	63	4,25	
11,25	170	11,47	
12,00	301	20,31	N = 1.482
12,75	356	24,02	$\bar{x}$ = 12,84μ
13,50	305	20,58	s = 1,19μ
14,25	178	12,01	ic = 10,46 – 15,22μ
15,00	83	5,60	
15,75	26	1,75	

Êstes dados nos permitem calcular as constantes das distribuições nos casos de infecção mixta, constantes estas que são apresentadas no próprio quadro III e que não diferem significativamente daquelas obtidas no estudo dos casos de infecção simples.

Prevalência das raças. Além dos 161 casos de amebíase, observados entre 298 pacientes e que serviram para o estudo que acabamos de relatar, tivemos ocasião de examinar mais 81 casos entre 122 pacientes adicionais, elevando o total de casos positivos para 242 e o de indivíduos examinados para 420. Embora não tenhamos feito um estudo detalhado dêstes casos adicionais, na classificação das raças do parasita neles presentes adotamos o critério atrás estabelecido, isto é, de cada amostra de fezes, medíamos alguns cistos e se êstes fôssem menores que 10 μ, a amostra era classificada como pequena; se os cistos medissem mais de 10 a amostra era considerada como grande; finalmente quando encontrávamos cistos maiores e menores que 10 μ o caso era considerado como de infecção mixta.

Os resultados obtidos no conjunto dos 242 casos de infecção são apresentados no quadro IV.

QUADRO IV

Prevalência das raças de E. histolytica em 242 indivíduos examinados

Raça	Número de casos	Percentagem	
		Sôbre o total de positivos	Sôbre o total de examinados
Pequena	87	35,95	20,71
Grande	110	45,45	26,19
Ambas	45	18,60	10,72
Total	242	—	57,62

Verifica-se por êste quadro que a prevalência da raça grande em nosso material é superior àquela da raça pequena. Neste particular nossos resultados estão em desacôrdo com os de SAPERO, HAKANSSON & LOUTTIT (1942), MILLER & CHOQUETTE (1947) e BUCCO & CHIEFFI (1954) que observaram o inverso. Êles se aproximam dos de FAUST (1958), embora a diferença entre as prevalências das duas raças não seja tão acentuada como a observada por êste autor. Por outro lado, a prevalência de infecções mixtas foi semelhante à observada por FAUST (1958) que registrou 8,3%.

Procurando verificar se ocorreriam diferenças nos dois sexos, obtivemos os resultados apresentados no quadro V.

QUADRO V

Prevalência das raças da E. histolytica em função do sexo

Sexo / Raça	Masculino			Feminino		
	Número de casos	Percentagem		Número de casos	Percentagem	
		Sôbre positivos	Sôbre examinados		Sôbre positivos	Sôbre examinados
Pequena	63	35,59	20,59	24	36,92	21,05
Grande	79	44,63	25,82	31	47,69	27,19
Ambas	35	19,77	11,44	10	15,38	8,77
Total	177	—	57,84	65	—	57,02

Êstes resultados indicam que não existe, em nosso material, diferença de prevalência das diversas raças entre homens e mulheres.

Estudos sôbre a constância racial, a correlação entre o tamanho dos cistos e dos trofozoítas, assim como a existência de outros caracteres morfológicos além do tamanho dos cistos, estão em prosseguimento e oportunamente apresentaremos os resultados obtidos.

RESUMO

O estudo de 129 amostras de *E. histolytica* provenientes de pacientes diversos internados no Hospital para Psicopatas de Santa Teresa, em Ribeirão Prêto, revelou a existência de duas "raças" diversas do parasita distinguíveis pelo diâmetro dos cistos medidos em preparações coradas pelo lugol: uma "raça" pequena, da qual foram medidos 2.050 cistos provenientes de 57 indivíduos, caracterizada por cistos com diâmetro médio de 7,91 $\pm$ 1,05 μ, e uma "raça" grande, da qual foram medidos 2.575 cistos provenientes de 72 indivíduos, caracterizada por cistos com diâmetro médio de 12,81 $\pm$ 1,26 μ. As médias das amostras individuais de cada "raça" não diferem entre si, mas a média de cada amostra da "raça" pequena estudada é significativamente diferente da média de qualquer amostra da "raça" grande.

O limite estabelecido para a separação das duas "raças", calculado com vistas a permitir igual êrro de classificação, foi o valor 10,14 μ, que dá um êrro de 1,7% para cada raça. Na prática aquêle limite pode ser fixado em 10 μ. Embora em certo número de casos haja superposição de medidas, isto é, embora se encontrem cistos da "raça" pequena, com diâmetro maior que 10 e cistos da raça grande com diâmetro inferior a êste valor, tal superposição é pequena, isto é, 1,32% para a "raça" pequena e 0,37% para a "raça" grande.

Em adição, foram estudados 113 casos de infecção, elevando o total de casos positivos para 242, observados entre 420 pacientes; as proporções relativas das raças de *E. histolytica* são as seguintes: "raça" pequena 35,95%, "raça" grande 45,45% e ambas as "raças" 18,60%. A prevalência delas em relação ao total de indivíduos examinados foi de 20,71%, 26,19% e 10,72% respectivamente.

SUMMARY

A study of the mean diameters of individual strains and the pooled size distribution of 4,625 cysts of *Entamoeba histolytica* from 129 patients, demonstrates the existence of two significantly distinct "races": a smal race, of which 2,050 cysts from 57 patients were measured, with mean diameter equal to 7.91 ± 1.05 μ, and a large race, of which 2,575 cysts from 72 individuals were measured, with mean diameter equal to 12.81 ± 1.26 μ. The means of the individual strains of each race do not differ significantly, but the mean of each individual strain of one race is significantly different from the mean of any given strain of the other race.

As the dividing line between the two races, calculated with a view of allowing an equal error of classification for the two races, the value 10.14 μ was found; this error is of 1.7 per cent. In practice, the 10 μ line may be used to distinguish living cysts of the two races.

Although there is an overlapping between the upper range of the small race and the lower range of the large race in a certain number of cases, this overlapping is actually small, i. e., it is brought about by only a very small number of cysts at the extremes of dispersion. Only 1.32 per cent of cysts of the small race fall beyond the dividing line and 0.37 per cent of cysts of the large race measure less than 10.

As to the prevalence of the two races in the group studied, i. e., 420 inmates from a mental hospital, the following results were obtained: small race -87 patients or 20.71 per cent, large race -110 or 26.19 per cent, and small and large races -45 patients or 10.72 per cent. Taking into consideration only the number of cases of amibiasis found in the group, i. e., 242 patients, the proportions of the races are 35.95 per cent, 45.45 per cent and 18.60 per cent, respectively.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amaral, A. D. F., 1944, *Algumas contribuições do laboratório para o estudo da amebíase*. Tip. Rossolillo, S. Paulo.

Brumpt, E., 1928, Differentiation of the human intestinal amoebae with four-nucleated cysts. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 22:101-114.

Bucco, G. & Chieffi, G., 1954, Sulle varietà morphologiche di *Entamoeba histolytica*. I. Diametro delle cisti. *Riv. Parassitol.*, 15:279-284.

CUNHA, A. M. & MUNIZ, J., 1929, Consideraciones sobre *"Entamoeba hartmanni"*. *Prensa Med. Argent.*, 15:1454-1460.

DOBELL, C., 1919, *The amoebae living in man*. A zoological monograph. John Bale, Sons, and Danielsson, Ltd., London.

DOBELL, C. & JEPPS, M. W., 1917, On the three common intestinal *Entamoeba* of man and their differential diagnosis. *Brit. Med. J.*, 1:607-612.

DOBELL, C. & JEPPS, M. W., 1918, A study of the diverse races of *Entamoeba histolytica*, distinguishable from one another by dimensions of their cysts. *Parasitology*, 10:320-350.

FAUST, E. C., 1958, Parasitologic surveys in Cali, Departamento del Valle, Colombia. I. Incidence and morphologic characteristics of strains of *Entamoeba histolytica*. *Amer. J. Trop. Med.*, 7:4-15.

FAUST, E. C. *et alii*, 1938, A critical study of clinical laboratory technics for the diagnosis of protozoan cysts and helminth eggs in feces. I. Preliminary communication. *Amer. J. Trop. Med.*, 18:169-183.

FAUST, E. C. *et alii*, 1939, Comparative efficiency of various technics for the diagnosis of protozoa and helminths in feces. *J. Parasitol.*, 25:241-262.

MILLER, M. J. & CHOQUETTE, L. P. E., 1947, Studies on amebiasis in Canada. Part I. The incidence of intestinal protozoal infections in two institutionalized groups in Canada. *Canad. J. Res.*, Sect. E., Med. Sci., 25:1-4.

MILLER, R. B., 1958, Amebiasis as seen in an office practice. *Amer. J. Med. Sci.*, 235 (3):261-265.

NÖLLER, W., 1921, Über einige wenig bekannte Darm-protozoan des Menschen und ihre nächsten Verwandten. *Arch. Schiffs-u. Tropenhyg.*, 25:35-40.

SAPERO, J. J., HAKANSSON, E. G. & LOUTTIT, C. M., 1942, The occurrence of two significantly distinct races of *Entamoeba histolytica*. *Amer. J. Trop. Med.*, 22:191-208.

SMITH, A. M., 1918, Measurements of and observations upon the cysts of *Entamoeba histolytica* and of *Entamoeba coli*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 12:27-69.

SMITH, A. M., 1919, A contribution to the question of the number of races in the species *Entamoeba histolytica*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 13:1-16.

UJIHARA, K., 1914, Studies über die Amöbendysenterie. *Z. Hyg.*, 77:329-355.

WENYON, C. M. & O'CONNOR, F. W., 1917, An inquiry into some problems affecting the spread and incidence of intestinal protozoal infection of British troops and natives in Egypt. Part II. *J. R. Army Med. Corps*, 28:151-187.

Rev. Brasil. Biol., 20 (2) : 121-129
Setembro, 1960 — Rio de Janeiro, Gb.

NOTAS SÔBRE A BIOLOGIA DO CAMARÃO "SOSSÊGO", "MACROBRACHIUM JELSKII" (MIERS, 1877) CHACE & HOLTHUIS, 1948, NUMA PEQUENA BACIA POTAMOGRÁFICA DO NORDESTE BRASILEIRO[1]

MELQUÍADES PINTO PAIVA e VICENTE DE ARAÚJO BARRETO
Escola de Agronomia, Fortaleza, Ceará

(Com uma figura no texto)

Poucos estudos existem sôbre os camarões, nativos ou exóticos, que habitam as águas interiores do Brasil. Entretanto, além do interêsse puramente científico, êstes animais são importantes como alimento para peixes carnívoros e mesmo para pequenos núcleos demográficos, sendo também empregados como isca nas pescarias com anzol.

No presente trabalho estudamos alguns aspectos da biologia do camarão "sossêgo", *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) Chace & Holthuis, 1948, numa pequena bacia potamográfica do nordeste brasileiro.

MATERIAL

Foram utilizados 1.733 indivíduos, dos quais 56 eram fêmeas ovadas, todos capturados na bacia do riacho Alagadiço Grande, afluente do rio Maranguapinho, êste afluente do rio Ceará. Obtivemos um total de 13 amostras, correspondentes aos meses de setembro, 1956 a setembro, 1957. A figura 1 apresenta o sistema hidrográfico da área donde procedeu o material, estando os locais de coleta devidamente assinalados. A Tabela I contém dados pormenorizados referentes às nossas amostras.

MÉTODO

As pescarias para a coleta do material foram realizadas durante as primeiras horas da manhã, com rêde de malha muito pequena, na água rasa próxima das margens das coleções d'água. Em virtude da intermitência da corren-

[1] Recebido para publicação a 16 de março de 1960.

teza do sistema hidrográfico estudado, e também porque esta se apresenta muito violenta durante a época das chuvas, escolhemos para locais de coleta das nossas amostras apenas os que se conservam com águas lênticas, embora sofrendo variação de volume, durante um ciclo anual. Estas águas nos parecem ajustadas às características ecológicas ótimas da espécie em estudo.

Fig. 1 — Sistema hidrográfico da área donde procederam as amostras de *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) Chace & Holthuis, 1948. (1 = riacho Alagadiço Grande, 2 = rio Maranguapinho, 3 = zona de mangue; locais de coleta: A = açude principal da Escola de Agronomia da Universidade do Ceará, B = pequeno açude da Escola de Agronomia da Universidade do Ceará, C = lagoa de Ginibaú).

TABELA I

Dados referentes às amostras de Macrobrachium jelskii **(Miers, 1877) Chace & Holthuis, 1948**

Amostra	Número de indivíduos		Coleta	
	Total	Ovados	Local	Data
1	77	2	C	12/ 9/56
2	117	28	C	19/10/56
3	183	—	B	26/11/56
4	148	—	A	28/12/56
5	165	—	A	31/ 1/57
6	215	—	A	26/ 2/57
7	193	—	A	22/ 3/57
8	111	9	A	29/ 4/57
9	121	4	A	27/ 5/57
10	64	4	A	27/ 6/57
11	155	4	C	27/ 7/57
12	79	1	A	25/ 8/57
13	105	4	C	27/ 9/57
Total	1 733	56	—	—

Locais de coleta: A = açude principal da Escola de Agronomia da Universidade do Ceará; B = pequeno açude da Escola de Agronomia da Universidade do Ceará; C = lagoa de Ginibaú).

Após as capturas, os camarões foram conservados em álcool e levados para o laboratório.

Cada indivíduo teve o seu comprimento total medido por um compasso de pontas finas, aproximando-se as frações centesimais do centímetro. Consideramos comprimento total a distância entre a base de um pedúnculo ocular e a extremidade mediana do telso, tomada sôbre o dorso, estando o indivíduo completamente estendido numa superfície plana. A Tabela II apresenta as diversas classes estabelecidas para o comprimento total, tendo êste variado entre 1,30 e 5,40 cm, extremos incluídos. A Tabela III contém as freqüências relativas das diversas classes de comprimento total, em cada amostra.

TABELA II

Dados referentes às classes estabelecidas para o comprimento total de Macrobrachium jelskii **(Miers, 1877) Chace & Holthuis, 1948**

Classe	Amplitude (cm)	Centro (cm)
I	1,00 — 1,49	1,245
II	1,50 — 1,99	1,745
III	2,00 — 2,49	2,245
IV	2,50 — 2,99	2,745
V	3,00 — 3,49	3,245
VI	3,50 — 3,99	3,745
VII	4,00 — 4,49	4,245
VIII	4,50 — 4,99	4,745
IX	5,00 — 5,49	5,245

Não nos foi possível identificar rigorosamente os sexos dos indivíduos componentes do material. Para isto, deveríamos ter conhecimento de caracteres sexuais externos, precisos para qualquer fase do ciclo vital correspondente à

TABELA III

Dados referentes às freqüências relativas das diversas classes de comprimento total, em cada amostra de Macrobrachium jelskii **(Miers, 1877) Chace & Holthuis, 1948**

Classe	Freqüência relativa na amostra (%)												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
I	—	—	—	—	1,21	0,47	1,04	—	—	—	—	—	—
II	1,30	5,98	11,48	15,54	3,64	13,95	13,47	0,90	4,96	—	3,87	2,53	—
III	42,86	24,79	53,55	41,89	25,45	42,32	43,00	8,11	22,31	7,81	23,87	11,39	7,62
IV	35,06	29,06	18,58	29,06	53,94	34,42	33,16	48,65	28,93	31,25	38,06	36,71	37,14
V	18,18	24,79	8,20	8,78	10,91	6,97	9,33	32,43	36,36	48,44	28,39	41,77	45,72
VI	2,60	12,82	4,92	1,35	4,24	0,93	—	7,21	5,78	12,50	3,23	5,07	7,62
VII	—	2,56	2,18	0,68	—	—	—	2,70	0,83	—	2,58	2,53	0,95
VIII	—	—	1,09	2,70	—	0,47	—	—	0,83	—	—	—	0,95
IX	—	—	—	—	0,61	0,47	—	—	—	—	—	—	—
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

forma perfeita do animal. HOLTHUIS (1952) faz referência a caracteres sexuais externos, observáveis sòmente em machos adultos da espécie em estudo. Assim, em cada amostra apenas se separou as fêmeas ovadas do restante dos seus componentes. O comprimento total das fêmeas ovadas variou entre 3,15 e 4,40 cm, extremos incluídos. A Tabela IV apresenta as freqüências relativas dentro das respectivas amostras, das diversas classes de comprimento total em que se distribuiram as fêmeas ovadas.

TABELA IV

Dados referentes às freqüencias relativas dentro das respectivas amostras de Macrobrachium jelskii **(Miers, 1877) Chace & Holthuis, 1948, das diversas classes de comprimento total em que se distribuiram as fêmeas ovadas**

Classe	Freqüência relativa na amostra (%)							
	1	2	8	9	10	11	12	13
V.....	1,30	13,68	—	—	—	—	—	—
VI.....	1,30	8,55	5,41	3,31	6,25	0,65	1,27	2,86
VII.....	—	1,71	2,70	—	—	1,94	—	0,95
Total.....	2,60	23,94	8,11	3,31	6,25	2,59	1,27	3,81

De cada fêmea ovada retiramos cuidadosamente os ovos, que se mostravam envolvidos, no seu conjunto, por uma substância gelatinosa, estando localizados na superfície ventral do abdome, presos aos pleópodos. As fêmeas ovadas, já em fase de eclosão das larvas, foram reconhecidas pelo pequeno número de ovos ainda presos aos pleópodos, bem como pelo aspecto rôto e enegrecido do envoltório referido. Na Tabela V estão as freqüências relativas dentro do total das respectivas amostras, das classes de comprimento total em que se distri-

TABELA V

Dados referentes às freqüências relativas dentro das respectivas amostras de Macrobrachium jelskii **(Miers, 1877) Chace & Holthuis, 1948, das diversas classes de comprimento total em que se distribuiram as fêmeas ovadas, já em fase de eclosão das larvas, consideradas isoladamente**

Classe	Freqüência relativa na amostra (%)					
	2	8	9	11	12	13
VI.....	1,71	0,90	0,83	—	1,27	0,95
VII.....	—	—	—	0,65	—	—
Total.....	1,71	0,90	0,83	0,65	1,27	0,95

buiram as fêmeas por último mencionadas. A Tabela VI contém dados referentes ao número de ovos de fêmeas ovadas, nas diversas classes de compri-

mento total em que se distribuiram, com exclusão daquelas que já haviam iniciado a eclosão das larvas.

TABELA VI

Dados referentes ao número de ovos de fêmeas ovadas de Macrobrachium jelskii **(Miers, 1877) Chace & Holthuis, 1948, nas diversas classes de comprimento total em que se distribuiram, com exclusão daquelas que já haviam iniciado a eclosão das larvas**

Classe	Número de ovos		
	Máximo	Mínimo	Médio
V	59	28	46,53
VI	81	16	54,71
VII	107	35	75,88

Tendo os ovos se apresentado com aspectos avermelhado e branco, isoladamente ou presentes num mesmo ôvo, procuramos conhecer os tamanhos médios de ovos totalmente avermelhados ou brancos. Para isto, medimos ao microscópio 10 ovos de cada tipo, com aproximação para frações centesimais do milímetro (Tabela VII). Verificamos que os ovos brancos apresentavam desenvolvimento embrionário sempre mais avançado, em relação aos avermelhados.

TABELA VII

Dados referentes aos tamanhos dos ovos de Macrobrachium jelskii **(Miers, 1877) Chace & Holthuis, 1948, resultantes de medições efetuadas ao microscópio, em 10 ovos de cada tipo relacionado**

Aspecto dos ovos	Comprimento (mm)			Largura (mm)			Altura (mm)		
	Máximo	Mínimo	Médio	Máxima	Mínima	Média	Máxima	Mínima	Média
Avermelhado	1,60	1,45	1,53	1,10	1,00	1,03	1,05	1,00	1,02
Branco	2,15	1,60	1,79	1,40	1,00	1,17	1,40	1,00	1,15

DISCUSSÃO

A Tabela III permite a verificação, em primeiro lugar, da variação existente entre as freqüências relativas das diversas classes de comprimento total em um ciclo anual; e em segundo lugar, da presença das classes extremas de comprimento total apenas nos primeiros meses do ano. Como não nos foi possível identificar os sexos e também porque nada sabemos acêrca dos hábitos de *M. jelskii,* não nos sentimos seguros para interpretar os fatos mencionados. Entretanto, podemos suspeitar a existência de migrações perpendiculares às margens, porque a variação entre as freqüências relativas das diversas classes de comprimento total nas amostras é muito grande, não podendo ser resultante

apenas de mudas realizadas nas próprias águas marginais; e, também, porque a presença das classes extremas de comprimento total nas águas marginais, corresponde aos primeiros meses da estação chuvosa (janeiro-junho), de grande significação no ciclo anual dos sêres vivos do nordeste brasileiro.

O comprimento total dos indivíduos componentes do material variou entre 1,30 e 5,40 cm, extremos incluídos. Êstes números têm bastante significação, porque devem corresponder aos tamanhos extremos da espécie, na sua forma perfeita, desde que se leve em consideração o elevado número de medições efetuadas e a malha da rêde de captura. HOLTHUIS (1952) afirma ser o comprimento total máximo para *M. jelskii* correspondente a 5,60 cm, porém não diz quais os pontos de referência para a tomada da medida.

A Tabela IV mostra como é extenso o período de reprodução de *M. jelskii*, o qual abrange os meses de abril a outubro, sendo o último mês referido o que apresenta uma freqüência de fêmeas ovadas muito alta em relação aos demais. Vê-se portanto, que a reprodução independe da estação chuvosa (janeiro-junho), o que é raro entre os animais aquáticos nativos da região. Estas afirmações são reforçadas pelo fato das águas marginais constituirem bons ambientes para a criação dos camarões em geral. Como as coletas de material foram realizadas em verdadeiros criadouros naturais, julgamos que os nossos dados refletem bem a verdade.

Foram encontradas fêmeas ovadas com comprimentos totais que variaram entre 3,15 e 4,40 cm, extremos incluídos. HOLTHUIS (1952) dá o comprimento total de 2,80 cm como o mínimo para fêmeas ovadas, sem dizer qual o máximo e quais os pontos de referência da medida. Outro fato interessante diz respeito à diferença de 1,00 cm entre os comprimentos totais máximos dos indivíduos componentes do conjunto do material e das fêmeas ovadas, em favor dos primeiros. Isto pode ser resultante de dimorfismo sexual de natureza biométrica, o que é bem provável, ou então, da existência de fêmeas velhas, sem capacidade de reprodução.

Ainda a Tabela IV permite tirar as seguintes observações: a) que em *M. jelskii* a maturação sexual das fêmeas e, como conseqüência, a primeira desova, se verificam no período de setembro a outubro, o que justifica a grande freqüência relativa de fêmeas ovadas no último mês referido, pelo ingresso de novas fêmeas entre as sexualmente ativas; b) que em *M. jelskii* os comprimentos totais compreendidos entre 3,50 e 3,99 cm, extremos incluídos, se constituem os mais próprios e freqüentes, para fêmeas ovadas.

Pela Tabela VI podemos verificar que os números máximo, mínimo e médio de ovos em fêmeas ovadas e por classes de comprimento total, tendem a aumentar, à medida que êste se incrementa. HOLTHUIS (1952) afirma ser pequeno o número de ovos por fêmea ovada, o que não deixa de estar mais ou menos de acôrdo com os nossos dados. O número 107 corresponde ao máximo de ovos por nós encontrados numa fêmea ovada.

Observamos que os ovos se apresentaram com aspectos avermelhado e branco, isoladamente ou presentes num mesmo ôvo, bem como que o desenvolvimento embrionário estava mais avançado nos ovos totalmente brancos. Os ovos avermelhados são mais frágeis e aderentes do que os brancos. Com a Tabela VII podemos concluir que os ovos de *M. jelskii* são ovóides, e que os brancos são maiores do que os avermelhados. Sendo assim, o desenvolvimento embrionário determina um aumento de volume da câmara do ôvo. Holthuis (1952) dá como medidas, em diâmetro, para os ovos da espécie em estudo, as compreendidas entre 1,3 e 2,3 mm, extremos incluídos. Das nossas medições, verificamos que as médias aritméticas para comprimento, largura e altura de ovos, foram 1,53, 1,03 e 1,02 mm, respectivamente, para ovos avermelhados; e 1,79, 1,17 e 1,15 mm, respectivamente, para ovos brancos.

CONCLUSÕES

1. Em águas marginais e lênticas, é grande a variação entre as freqüências relativas das classes de comprimento total referidas para *M. jelskii,* num ciclo anual.

2. Em águas marginais e lênticas, a presença das classes extremas de comprimento total (1,00-1,49 cm e 5,00-5,49 cm), referidas para *M. jelskii,* é observada apenas no primeiro trimestre do ano, início da estação chuvosa (janeiro-junho).

3. Em águas marginais e lênticas, o comprimento total de *M. jelskii,* na sua forma perfeita, varia entre 1,30 e 5,40 cm, extremos incluídos.

4. O período de reprodução de *M. jelskii* abrange os meses de abril a outubro, extremos incluídos, sendo mais intensa no mês por último referido, independendo da estação chuvosa (janeiro-junho).

5. O comprimento total das fêmeas ovadas de *M. jelskii* varia entre 3,15 e 4,40 cm, extremos incluídos.

6. O ingresso de novas fêmeas de *M. jelskii* entre as sexualmente ativas se verifica no período de setembro a outubro, extremos incluídos.

7. Em *M. jelskii,* os comprimentos totais compreendidos entre 3,50 e 3,99 cm, extremos incluídos, se constituem os mais próprios e freqüentes, para fêmeas ovadas.

8. As fêmeas ovadas de *M. jelskii* apresentam os ovos, no seu conjunto, envolvidos por uma substância gelatinosa, estando localizados na superfície ventral do abdome, presos aos pleópodos.

9. Em *M. jelskii,* os números máximo, mínimo e médio de ovos em fêmeas ovadas e por classes de comprimento total, tendem a aumentar, à medida que êste se incrementa.

10. Em *M. jelskii,* o número 107 corresponde ao máximo de ovos encontrados numa fêmea ovada.

11. Os ovos de *M. jelskii* se apresentam com aspectos avermelhado e branco, isoladamente ou presentes num mesmo ôvo.

12. Os ovos de *M. jelskii* são ovóides, sendo os avermelhados mais frágeis e aderentes do que os brancos, enquanto que o desenvolvimento embrionário é mais avançado e as dimensões são maiores nos últimos referidos.

13. Em *M. jelskii,* o desenvolvimento embrionário determina um aumento do volume da câmara do ôvo.

14. Em *M. jelskii,* as médias aritméticas para comprimento, largura e altura de ovos, são 1,53, 1,03 e 1,02 mm, respectivamente, para os ovos avermelhados; e 1,79, 1,17 e 1,15 mm, respectivamente, para os ovos brancos.

SUMMARY

The present paper deals with some biological aspects of the "sossêgo" shrimp, *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) Chace & Holthuis, 1948, in a small river basin of Northeastern Brazil.

The study was made on 1.733 individuals, of which 56 were spawnfilled females, all captured in the basin of the creek Alagadiço Grande, affluent of Maranguapinho river, which runs into Ceará river. The material consisted of 13 samples corresponding to the months of September, 1956 to September, 1957.

The following conclusions were obtained:

1. In lentic and shore waters, there is a considerable variation among the relative frequencies of the classes of the total length referred for *M. jelskii,* in an annual cycle.

2. In lentic and shore waters, the presence of extreme classes of the total length (1,00-1,49 and 5,00-5,49) referred for *M. jelskii,* is observed only in the first quarter of the year, when the rainy season (January-June) begins.

3. In lentic and shore waters, the total length of the *M. jelskii,* in its adult form, varies from 1,30 to 5,40 cm, extremes included.

4. The reproduction period of the *M. jelskii* covers the months from April to October, extremes included, being more intensive in the latter month, independent of the rainy season (January-June).

5. The total length of the spawnfilled females of the *M. jelskii* varies from 3,15 to 4,40 cm, extremes included.

6. The coming of new females of *M. jelskii* among the sexually active occurs in the period from September to October, extremes included.

7. In *M. jelskii,* the total lengths from 3,50 to 3,99 cm, extremes included, are the most frequent for spawnfilled females.

8. In spawnfilled females of *M. jelskii,* the eggs are involved in its conjoint by a gelatinous substance, and are situated on the ventral surface of the abdomen, tied to the pleopods.

9. In *M. jelskii,* the maximum, minimum and mean numbers of eggs in the spawnfilled females grouped by total length classes, increase with the total length.

10. In *M. jelskii,* the greatest number of eggs found was 107, in one spawnfilled female.

11. The eggs of *M. jelskii* are reddish, white and with both shades.

12. The eggs of *M. jelskii* are ovoid, the reddish are more fragile and adherent than the white ones, these have an embryonate development more advanced and larger dimensions than the former.

13. In *M. jelskii,* embryonate development determines an increase of the volume in the egg chamber.

14. In *M. jelskii,* the arithmetic mean for length, width and height of the eggs, are 1,53, 1,03 and 1,02 mm, respectively, for reddish eggs; and 1,79, 1,17 and 1,15 mm, respectively, for white eggs.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

HOLTHUIS, L. B., 1952, A general revision of the *Palaemonidae* (*Crustacea Decapoda Natantia*) of the Americas. II. The subfamily *Palaemoninae. Occas. Pap. Allan Hancock Fdn. Publ.,* 12 : 1-396, 55 figs.

Rev. Brasil. Biol., 20 (2) : 131-138
Setembro, 1960 — Rio de Janeiro, Gb.

ESTUDOS SÔBRE A COLORAÇÃO DE PROTOZOÁRIOS INTESTINAIS. II. Métodos rápidos que empregam mordentes e corantes em soluções separadas [1]

MAURO PEREIRA BARRETTO e HUGO ZAGO FILHO
Faculdade de Medicina, Ribeirão Prêto, S. Paulo

Os métodos de coloração que se têm mostrado mais eficientes e são universalmente usados para os protozoários intestinais em geral empregam a hematoxilina. A expressão "coloração pela hematoxilina" entrou para a linguagem corrente, mas, como assinala LANGERON (1949), o princípio corante é uma laca metálica da hemateína.

As lacas que têm sido empregadas são: alumínica, férrica, túngstica e molíbdica. A coloração pela laca alumínica se efetua em uma solução desta, formada pela combinação do sulfato duplo de alumínio e potássio ou amônio com a hematoxilina. Esta laca constitui a base do hemalumen ácido de Meyer e suas modificações de que já tratamos em trabalho anterior (BARRETTO & ZAGO, 1959). As outras lacas também têm sido usadas em solução, podendo dar resultados satisfatórios, como no método de LILLIE (1942) segundo relatamos no referido trabalho. Porém, elas atuam melhor quando se formam na célula a corar, mediante o uso sucessivo da solução do mordente e da solução de hematoxilina.

No presente trabalho apresentamos os resultados obtidos no estudo comparativo da eficiência de métodos rápidos em que a mordençagem e a coloração se fazem em etapas separadas.

Experimentamos exaustivamente em todos os protozoários intestinais os métodos preconizados por DOBELL (1942), MARKEY, CULBERTSON & GIORDANO (1943), TOMPKINS & MILLER (1947) e ALLI (*in* CRAIG, 1948), tendo presente os requisitos seguintes: bom contraste, consistência dos resultados, uniformidade na coloração dos trofozoítas e cistos, estabilidade das soluções usadas, desnecessidade de diferenciação no mordente e rapidez.

---

[1] Recebido para publicação a 10 de maio de 1960.
Trabalho do Departamento de Parasitologia (Dir.: Prof. M. P. BARRETTO), Faculdade de Medicina, Ribeirão Prêto, SP.

Hematoxilina fosfotúngstica de Dobell — A laca fosfo-túngstica de Mallory foi recomendada para os protozoários intestinais por James (1914) e mais recentemente por Sohier & Jaulmes (1939), Dobell (1942) e outros.

Dobell (1942) aconselha a mordençagem em solução aquosa de ácido fosfo-túngstico a 2% durante no mínimo 30 minutos e, após lavagem cuidadosa, coloração pela solução aquosa de hematoxilina a 0,2%, durante no mínimo 15 minutos. Os preparados são, em seguida, lavados em água de torneira até que apareça a côr púrpura.

Diversas tentativas feitas mostraram que podemos reduzir os tempos de mordençagem e coloração até para 3-4 e 4-5 minutos respectivamente e obter a viragem em água corrente em 1-2 minutos. Verificamos também ser dispensável o contrôle da coloração ao microscópio, pois não há perigo de hipercoloração.

Êste método dá bons resultados para flagelados (cistos ou trofozoítas) e trofozoítas das amebas, mas os cistos destas, particularmente os da *E. coli*, não se coram bem, principalmente quando visando tornar o método rápido, diminuimos os tempos de mordençagem e coloração, como pode ser feito com a hematoxilina molíbdica, de que falaremos adiante.

Hematoxilina molíbdica de Dobell — Dobell (1942) sugeriu um método semelhante ao precedente, no qual substitui o ácido fosfo-túngstico pelo molibdato de amônio. A lavagem em água, após a coloração, produz uma "viragem" para o azul.

Êste método foi mais recentemente estudado por Artigas (1955) que conseguiu reduzir os tempos de mordençagem e de coloração para 10 e 2,5 minutos, respectivamente, e obter a viragem na água em 1 minuto. Isto veio torná-lo muito prático e rápido.

Embora Artigas (1955) assinale que as soluções se conservam bem, devendo ser renovadas sòmente após uma semana de uso intensivo, verificamos que na solução de molibdato de amônio, mesmo quando não em uso, logo se forma um precipitado que deve ser removido por filtragem. Por outro lado, o método requer o uso de soluções novas de hematoxilina embora as soluções velhas ou amadurecidas possam fornecer resultados satisfatórios. Neste particular nossa experiência confirma as verificações de Dobell (1942). O envelhecimento da solução de hematoxilina condiciona resultados irregulares e esta irregularidade é maior quando está em uso; após algumas colorações ela escurece e se precipita, sobretudo se, a fim de não tornar o processo mais longo, a lavagem em água, entre a mordençagem e a coloração, não é cuidadosa e demorada.

Para obviar êste inconveniente experimentamos o ácido fosfo-molíbdico em solução aquosa a 2%, em substituição ao molibdato de amônio. Os resultados foram muito bons. A solução de ácido fosfo-molíbdico se conserva bem durante vários meses e tanto as soluções de hematoxilina frescas como as ama-

durecidas podem ser empregadas sem inconvenientes, corando bem durante mais de uma semana de uso. Por outro lado, os tempos de mordençagem e coloração puderam ser reduzidos para 2 e 4 minutos respectivamente.

Eis a técnica por nós seguida. Após fixação e lavagem, submeter os esfregaços aos seguintes tratamentos:

1 — Mordençar em solução aquosa a 2% de ácido fosfomolíbdico (cristais amarelos) durante 2 minutos.

2 — Lavar em água corrente durante 1 minuto.

3 — Corar em solução aquosa de hematoxilina a 0,2% durante 4 minutos.

4 — Lavar em água corrente até aparecimento da côr azul, o que leva mais ou menos 1-2 minutos.

5 — Imergir em álcool a 70 durante 1 minuto.

6 — Imergir em álcool a 95 durante 1 minuto.

7 — Clarificar no creosoto de faia durante 2 minutos.

8 — Montar em bálsamo do Canadá.

Desde a mordençagem até a montagem gastam-se 12 a 13 minutos (naturalmente sem contar o tempo necessário para transferir os preparados de uma solução para outra) através de 8 etapas.

A coloração pela hematoxilina fosfo-molíbdica dá resultados excelentes para os flagelados (trofozoítas ou cistos); resultados muito satisfatórios são também conseguidos com os trofozoítas e cistos de amébidas, exceto a *E. coli,* cujos cistos se coram com certa irregularidade, às vêzes mostrando-se pouco corados e outras vêzes algo hipercorados.

Hematoxilina férrica de Tompkins & Miller — Tompkins & Miller (1947) recomendam mordençar os esfregaços em solução de alúmen de ferro a 4% durante 3-5 minutos, corar pela hematoxilina a 0,5% durante 1 minuto e, depois, diferenciar em solução de ácido fosfo-túngstico a 2% durante 2 ou mais minutos. Esta diferenciação tem a vantagem, segundo os autores, de ser automática e auto-limitada e pode ser feita a ôlho desarmado.

Apesar de rápido, o método tem o inconveniente de requerer diferenciação que às vêzes deve ser demorada; demais esta diferenciação requer cuidados e experiência do operador. Por outro lado, a coloração dos cistos de *E. coli* não é regular.

Hematoxilina férrica de Alli — Alli *(in* Craig, 1948) sugeriu um método que, além de usar um fixador especial, suprime a diferenciação no mordente. O fixador indicado tem a seguinte fórmula:

Ácido tânico	4 g
Álcool etílico a 70	90 ml
Ácido acético glacial	5 ml
Fenol em cristais	1 g

O uso dêste fixador não é indispensável, podendo êle ser substituído com vantagens pelo líquido de Schaudinn ou pela mistura de Bouin-Hollande.

O interêsse do método reside na supressão da diferenciação. Recomenda o autor mordençar o esfregaço em solução de alúmen de ferro a 4%, durante alguns segundos, e, após lavagem em água corrente, corar durante 3 a 5 minutos em solução aquosa de hematoxilina a 0,5%. Após a coloração o preparado é lavado em água e imerso em álcool a 70 durante meio a um minuto, tempo necessário para se dar a viragem para o azul.

Experimentamos êste método, usando o fixador de Alli e outros. Os resultados não foram satisfatórios particularmente para os cistos de *E. coli*. Demais, a viragem para o azul em álcool a 70 não se opera como descreve o autor.

Hematoxilina férrica de Markey e cols. — O método proposto por Markey, Culbertson & Giordano (1943) consiste em mordençar os esfregaços a quente (56°C) em solução de alúmen de ferro a 5% durante 2-3 minutos, lavar em água distilada e corar a quente (56°C) durante 1-2 minutos em solução aquosa de hematoxilina a 0,1% acidificada com 2,0% de ácido acético. Após a coloração o preparado é lavado em água corrente até o aparecimento de côr azul.

Êste método, em nossas mãos, deu bons resultados para trofozoítas e cistos de todos os protozoários intestinais. Procurando eliminar o inconveniente de operar a quente, tentamos, de um lado, modificar a concentração das soluções e, de outro, aumentar os tempos de mordençagem e coloração, operando sempre à temperatura ordinária.

Desde logo concluimos que o aumento da concentração da solução de alúmen de ferro era desnecessária; aliás, a experiência anteriormente adquirida com o uso do método de Amaral (1944) na rotina de laboratório já nos indicara que uma solução de alúmen a 2% durante 2 a 4 minutos assegurava uma mordençagem suficiente. Assim, mantivemos a concentração de 5% indicada por Markey e cols. (1943) e, depois, passamos a usar, com resultados igualmente satisfatórios, a solução a 2% deixando-a agir, a princípio, durante 5 minutos e, mais tarde, durante 2-3 minutos.

Procurando obter maior contraste experimentamos as soluções mordentes preconizadas por Cole (1943) a base de alúmen de amônio acidulada pelo ácido acético e de cloreto férrico acidulada pelo ácido cítrico ou clorídrico, assim como a solução de alúmen de ferro e sulfato ferroso aconselhada por Earle (1939). Melhores resultados obtivemos com o mordente de Lang (1936), cuja fórmula é a seguinte:

Sulfato duplo de ferro e amônio a 4%	500 ml
Ácido acético glacial, C. D.	5 ml
Ácido sulfúrico, C. P., p. esp. 1,84	0,6 ml

Esta solução, além de dar excelente contraste, é estável e assegura boa mordençagem em 2 ou 3 minutos.

Por outro lado, experimentamos corar em solução de hematoxilina a 0,2%, 0,3%, 0,4% e 0,5%, durante 2, 3, 4 e 5 minutos. Verificando que a solução a 0,2% corava bem dentro de 2 a 3 minutos, experimentamos a solução originalmente preconizada, isto é, 0,1%. Os resultados ao fim de 3 a 4 minutos foram tão bons quanto os obtidos com o uso da solução a 0,2 durante 2 a 3 minutos. Como o uso da solução de hematoxilina mais diluída representa economia do corante, que é muito caro, decidimos empregar a solução a 0,1% com tempo de coloração de 3 a 4 minutos, economizando corante em troca de um pequeno aumento do tempo de coloração.

Quanto à viragem para o azul durante a lavagem em água corrente, verificamos que ela se processa em 1-2 minutos, desde que a água de torneira seja levemente alcalina. Em caso contrário, podemos apressar a viragem alcalinizando a água com bicarbonato de sódio ou carbonato de lítio. A lavagem rápida em água (1-2 minutos) leva a um subseqüente descoramento dos esfregaços. Para obtenção de preparações permanentes é necessária uma lavagem em água de pelo menos 10 minutos.

Uma das grandes vantagens do uso combinado do mordente de LANG (1936) com a hematoxilina de MARKEY e cols. (1943) reside no uso de soluções acidificadas. Estas soluções são estáveis e 50 ml delas se conservam em uso durante pelo menos uma semana, corando 15 preparados por dia, em média, sem produzir precipitados e dando colorações uniformes. Outra vantagem consiste na desnecessidade de diferenciação no mordente; a viragem em água corrente é nítida e fácil de controlar. Finalmente, obtêm-se colorações regulares dos cistos dos protozoários, particularmente dos de *E. coli*, que são os mais difíceis de corar, como já temos insistido.

A solução do mordente é preparada da seguinte maneira: selecionam-se cristais violáceos de sulfato duplo de ferro e amônio que, depois de moídos em um gral, são dissolvidos na proporção de 4,0 g para 100 ml de água destilada. A solução tem côr amarela e deve ficar absolutamente límpida. A 500 ml desta solução juntam-se 5,0 ml de ácido acético glacial C.P. e 0,6 ml de ácido sulfúrico, C.P., com densidade 1,84.

A solução da hematoxilina é preparada da seguinte maneira: pesa-se 0,1 g de hematoxilina cristalizada de boa marca (Merck, Grübler) e dissolve-se em 10 ml de álcool a 90 ou 95; em seguida junta-se água destilada até completar 100 ml. Uma vez pronta a solução a ela se juntam 0,2 ml de ácido acético glácial. Se já se dispõe no laboratório de uma solução "stock" (solução alcoólica de hematoxilina a 10% fresca ou madura), o que é mais conveniente, então é suficiente juntar a água e o ácido acético na proporção indicada, no momento de usar.

Os tempos do método, tal como o usamos, são abaixo descritos. Após fixação e lavagem, os esfregaços são submetidos ao seguinte tratamento:

1 — Mordençar na solução aquosa acidificada de alúmen de ferro a 4% durante 2 minutos.

2 — Lavar em água corrente durante 1 minuto.

3 — Corar pela solução aquosa acidificada de hematoxilina a 0,1% durante 3-4 minutos.

4 — Lavar em água de torneira até o aparecimento de côr azul, isto é, durante cêrca de 1-2 minutos.

5 — Imergir em álcool a 70 durante 1 minuto.

6 — Imergir em álcool a 95 durante 1 minuto.

7 — Clarificar no creosoto de faia durante 2 minutos.

8 — Montar em bálsamo do Canadá.

Assim o tempo gasto desde a mordençagem até a montagem (sem contar a manipulação) é de 11 a 13 minutos.

Cumpre-nos assinalar que as preparações obtidas por êste método não são tão belas e ricas em detalhes estruturais como as que se obtêm com os métodos clássicos demorados. Por outro lado, após alguns dias os preparados mostram certa tendência para o descoramento ou pelo menos as estruturas se tornam menos nítidas, a menos que a lavagem, após a coloração, seja demorada, como já dissemos. Mas, como método rápido de obtenção de preparações temporárias destinadas ao diagnóstico de protozoários intestinais, êle é inteiramente satisfatório. Seus resultados são superiores aos fornecidos por aquêles em que a mordençagem e a coloração são feitas em um só tempo, experimentados por Barretto & Zago (1959). Sôbre o método da hematoxilina molíbdica tem a vantagem de empregar alúmen de ferro que é mais barato e mais estável que o ácido fosfo-molíbdico e de produzir colorações mais regulares dos cistos.

RESUMO

Estudando vários métodos rápidos de coloração para protozoários intestinais, métodos êstes que requerem o uso separado de soluções mordentes e corantes, chegamos à conclusão de que o emprêgo combinado do mordente de Lang (1936) com a hematoxilina ácida de Markey, Culbertson & Giordano (1943), a frio, dá excelentes resultados para os trabalhos de rotina.

Êste método preenche os requisitos de bom contraste, consistência de resultados, regularidade na coloração de cistos e trofozoítas, estabilidade das soluções usadas, desnecessidade de diferenciação no mordente e rapidez.

Os resultados com êle obtidos, embora não sejam tão bons quanto os fornecidos pelos métodos lentos clássicos, são superiores aos que se conseguem com aquêles que permitem mordençagem e coloração a um só tempo.

As etapas dêste método são as seguintes: 1) mordençar a frio no mordente de Lang durante 2 minutos; 2) lavar em água corrente durante 1 minuto; 3) corar a frio pela solução de hematoxilina ácida de Markey e cols. durante 3-4 minutos; 4) lavar em água corrente (levemente alcalina) até o aparecimento de côr azul (1-2 minutos); 5) desidratar em álcool a 70 e a 95 durante 1 minuto em cada; 6) clarificar no creosoto durante 2 minutos e 7) montar em bálsamo do Canadá.

SUMMARY

STUDIES ON THE STAINING OF INTESTINAL PROTOZOA. II. RAPID METHODS USING DOUBLE-SOLUTION STAINS

A careful evaluation of the efficiency of various rapid methods requiring double-solution stains, for intestinal protozoa, was made. A combination of LANG's mordant and MARKEY, CULBERTSON & GIORDANO's acid hematoxylin proved entirely satisfactory, giving temporary preparations suitable for diagnosis in a short period of time.

This technique meets the following requirements stability of solutions for a long period of time, consistency of results, uniformity of staining of trophozoites and cysts, particularly the cysts of *Entamoeba coli* which are very difficult to stain, good density and contrast of color, no need for differentiation, and rapidity.

Although morphological details are not as well as brought out as in the classic methods of staining, the results are better than those obtained with the use of rapid single-solution stains.

The steps of the methods are follows: 1) immerse fixed smears in acid iron sulphate solution for 2 minutes; 2) wash in runing water for one minute; 3) stain in acid hematoxylin for 3-4 minutes; 4) wash in runing water (slightly alkaline) until a blue color appears (1-2 minutes); 4) dehydrate in 70 and 95 per cent ethyl alcohol for one minute in each; 5) clear in creosotum for 2 minutes, and 6) mount in Canada balsam.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, A. D. F., 1944, *Algumas contribuições do laboratório para o estudo da amebíase*. São Paulo, Ed. Autor.

ARTIGAS, J., 1955, Técnica de tinción por hematoxilina molíbdica para protozoos en frotes de deposiciones preservadas en fijador con alcohol polivinílico. *Bol. Chil. Parasitol*, 10:57-58.

BARRETTO, M. P. & ZAGO F.º, H., 1959, Estudos sôbre a coloração de protozoários intestinais. I. Métodos rápidos que empregam mordentes e corantes em uma única solução. *Rev. Brasil. Biol.*, 19:421-428.

Cole, E. C., 1943, Studies on hematoxylin stains. *Stain Technol.*, 18:125-142.

Craig, C. F., 1948, *Laboratory diagnosis of protozoan diseases*. Lea & Febiger, Philadelphia.

Dobell, C. C., 1942, Some new methods for studying intestinal amebae and other protozoa. *Parasitology*, 34:101-112.

Earle, W. R., 1939, Iron hematoxylin stain containing high concentration of ferrous iron. *Science*, 89:323-324.

James, W. M., 1914, Study of *Entamoeba* of man in Panama Canal Zone. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 8:133-320.

Lang, A. G., 1936, A stable, high contrast mordent for hematoxylin staining. *Stain Technol.*, 11:149-151.

Langeron, M., 1949, *Précis de Microscopie*. Masson & Cie., Paris.

Markey, R. L., Culbertson, C. J. & Giordano, A. S., 1943, A rapid method for staining of intestinal parasites. *Amer. J. Clin. Pathol.*, Techn. Sec., 7:2-3.

Sohier, R. & Jaulmes, C., 1939, Etude d'un procédé simple de coloration des amibes par l'hematoxyline phosphotungstique. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 32:25-28.

Tompkins, V. N. & Miller, J. K., 1947, Staining intestinal protozoa with iron-hematoylin-phosphotungstic acid. *Amer. J. Clin. Pathol.*, 17:755-758.

Rev. Brasil. Biol., 20 (2) : 139-142
Setembro, 1960 — Rio de Janeiro, Gb.

NOVA ESPÉCIE DE CLÉRIDA DO BRASIL (Col. Cleridae) [1]

ADRIANO LÚCIO PERACCHI
Escola Nacional de Agronomia, Rio de Janeiro

(Com 3 figuras no texto)

Como nova contribuição ao estudo dos Cléridas neotropicais, descrevemos na presente nota uma espécie do gênero *Lasiodera* Gray, 1832, que, em face dos caracteres exibidos, supomos inédita.

Lasiodera quadrivittata sp. n.

Macho — Comprimento 11,5 mm. Protórax: comprimento 2,5 mm; largura 2,5 mm. Élitros: comprimento 8 mm; largura 4 mm. Antenas: comprimento da clava 3 mm; comprimento total 4,5 mm.

Cabeça pilosa. Olhos médios e pouco salientes, com finas facetas, profundamente emarginados na frente, largamente separados tanto superior como inferiormente. Fronte com pontos pequenos, densamente distribuidos. Vértice com pontuação mais profunda e esparsa. Antena de 11 artículos, mais longa que a cabeça e o protórax em conjunto. Clava antenal mais longa que os demais artículos reunidos, os dois primeiros providos na base de um ramo que excede os respectivos comprimentos, 3.º artículo simples e alongado. Os artículos do funículo diminuem gradativamente de comprimento da base para o ápice. Escapo alongado, com pontos pilosos um tanto esparsos.

Protórax piloso, rebordado posteriormente, dos lados com pontos grossos e profundos densamente distribuidos, com pontos menores e mais esparsos no dorso, tão longo quão largo, uniforme e fracamente convexo, ângulos anteriores e posteriores ligeiramente arredondados, bordo posterior tão largo quanto

---

[1] Recebido para publicação a 30 de março de 1960.
Trabalho elaborado na Seção de Entomologia Agrícola do Instituto de Ecologia e Experimentação Agrícolas (Chefe da Seção: Benedicto A. M. Soares), sob os auspícios do Instituto de Economia Rural.

o anterior, bordos laterais ligeiramente convexos. Escutelo reniforme, com pontos pilosos.

Élitros menos pilosos que a cabeça e o protórax, em conjunto arredondados no ápice, apresentando pontos profundos densamente distribuídos, tão contiguos entre si que dão ao conjunto aspecto de retículo de malhas redondas.

Corpo inferiormente (exceto o mesoepisterno que é liso e glabro) recoberto de pontos pilosos.

Patas com pontos pilosos, os fêmures robustos e as tíbias delgadas.

Colorido — Clípeo, escapo, funículo, trocânteres e tarsos amarelo-acastanhados. Clava antenal e palpos amarelo-vivo. Cabeça, base das mandíbulas, prosterno, mesosterno, metasterno, mesoepisterno, mesoepímero, metepisterno, ancas e fêmures (exceto a base que é amarela-acastanhada) de colorido verde metálico claro. Abdômen (exceto uma faixa transversa distal dourada em cada urosternito) e tíbias de um verde azulado. Olhos, ápice das mandíbulas e garras negras. Sôbre cada élitro há duas faixas de um amarelo-pálido, estreitamente ligadas na região umeral, de tal forma que vistas de cima parecem independentes: a mais externa é marginal e vai até 2/3 do comprimento do élitro, a segunda, próxima da sutura, vai-se comprimindo progressivamente até um pouco além do meio onde forma uma constrição, a seguir torna a dilatar-se e vai terminar um pouco além da primeira faixa descrita. No mais os élitros são de um violáceo fosco, exceto na sutura, onde há tendência para o azul. Protórax lateralmente violáceo metálico, dorso bem como o escutelo de colorido metálico variável com a incidência de luz, mas predominantemente verde. Pilosidade geral esbranquiçada.

Habitat: Brasil, Espírito Santo (Córrego Itá). Coligido por W. Zikán em XI-1956.

Holótipo macho, na coleção da Seção de Entomologia Agrícola do Instituto de Ecologia e Experimentação Agrícolas.

Fêmea — Comprimento 13,5 mm. Protórax: comprimento 3 mm; largura 2,5 mm. Élitros: comprimento 9 mm; largura 4 mm. Antenas: comprimento da clava 2,5 mm; comprimento total 4 mm.

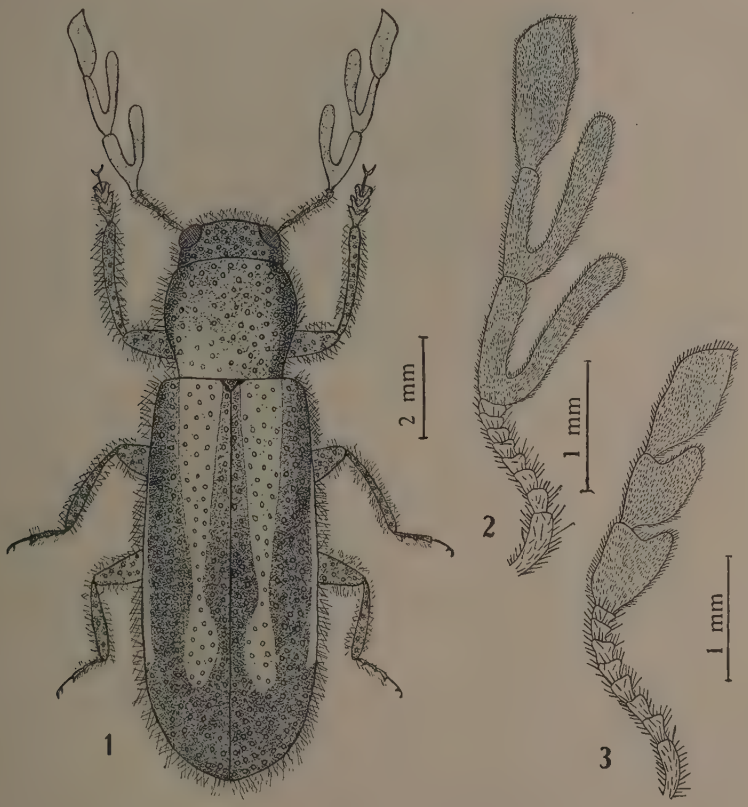
Os ramos dos dois primeiros artículos da clava antenal, descritos para o macho, se acham reduzidos a duas saliências apicais, 3.º artículo simples e alongado. Protórax ligeiramente mais longo que largo. No mais como no holótipo.

Colorido — Difere do sexo oposto pela faixa mais interna do élitro, que não sofre constrição visível, apresentando sua extremidade distal ligeiramente dilatada para fora e pela coloração das patas (trocânteres e tarsos amarelo-castanhos, fêmures de mesma coloração, com reflexos verde metálico, tíbias de um violáceo claro, garras negras).

Habitat: Brasil, Estado do Espírito Santo (Córrego Itá).

Alótipo fêmea na coleção Campos Seabra, coligido por W. Grossmann, em XI-1954. Parátipo fêmea, coligido por J. H. Guimarães, em 1/9-II-1957, depositado na coleção Campos Seabra.

A espécie é afim de *Lasiodera helopioides* (Cast., 1836), com a qual tivemos oportunamente de compará-la; distingue-se fàcilmente por não apresentar as duas faixas de cada élitro largamente unidas um pouco além do meio.



Lasiodera quadrivittata sp. n. — Fig. 1: Holótipo macho, vista dorsal; fig. 2: holótipo macho, antena; fig. 3: alótipo fêmea, antena. A. L. Peracchi del.

SUMMARY

The author describes *Lasiodera quadrivittata* sp. n. *(Col. Cleridae)* from Brazil. This species is closely related to *L. helopioides* (Cast., 1836) from which it is easily distinguished by the two elytral longitudinal bands, connected near the middle in *L. helopioides* (Cast., 1836), and running without connection in *L. quadrivittata* sp. n.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHEVROLAT, A., 1874, Catalogue des Clérides de la collection de M. A. Chevrolat. *Rev. Mag. Zool.*, (3) II-7 : 252-329.

CORPORAAL, J. B., 1950, *Cleridae*. Coleopterorum Catalogus (Suppl.) 23 (Editio Secunda): 373 pp.

GORHAM, H. S., 1877, Descriptions of new species of *Cleridae*, with notes on the genera and corrections of synonymy. *Trans. Ent. Soc. Lond.*: 401-426.

KLUG, J. C. F., 1842, Versuch einer systematischen Bestimmung und Auseinandersetzung der Gattungen und Arten der Clerii, einer Insectenfamilie von der Ordnung der Coleopteren. *Abhandl. K. Akad. Wiss. Berlin*: 259-397, 2 Taf.

PERACCHI, A. L., 1960, Contribuição ao estudo dos Cléridas neotropicais (*Col. Cleridae*). *Rev. Brasil. Biol.*, 20 (1) : 63-68, figs. 1-8.

PIC, M., 1933, Nouveaux Coleoptères américains. *Bull. Soc. Ent. France*, 38 (18) : 292-294.

SPINOLA, M., 1844, *Essai Monographique sur les Clérites*, Insectes Coléoptères, Gênes. I: IX + 386 pp., II: 119 pp.; Suppl.: 121-216, 47 pls.

THOMSON, J., 1860, Materiaux pour servir à une monographie nouvelle de la famille des Clérides. *Musée Scientifique*, II: 46-67.

Rev. Brasil. Biol., 20 (2) : 143-147
Setembro, 1960 — Rio de Janeiro, Gb.

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DO GÊNERO "VIANODES" H. ROSSI, 1955 (Col., Brentidae, Arrhenodinae) [1]

CARLOS R. MEYER
Escola Nacional de Agronomia, Rio de Janeiro

(Com 7 figuras no texto)

Na presente contribuição, referente ao gênero *Vianodes* H. Rossi, cujo estudo, sob o aspecto sistemático, se acha incluído em nosso programa de trabalho, resolvemos dar à publicidade as descrições de duas novas espécies do gênero em aprêço, bem como descrever o alótipo de *Vianodes facetus* (Kleine, 1927) ainda inédito.

Vianodes depressus sp. n.

(Figs. 1-3)

Macho — Comprimento 20,0 mm. Protórax: comprimento 5,25 mm, largura 4,00 mm.

Cabeça mais larga que longa, mais estreita adiante que atrás, com larguíssimo sulco que vai do bordo posterior até o meso-rostro, rostro menos raso entre os olhos. Pro-rostro e meta-rostro curtos, pro-rostro constricto diante do meso-rostro, com mandíbulas porrectas providas de minúsculo dentículo interno sub-basal e com saliente tubérculo mediano inferior na base. Meso-rostro com uma elevação de cada lado e sulco linear entre elas. Antenas medíocres, como as dos elementos da subfamília, todos os artículos mais longos que largos. Cabeça e rostro sem pontos, exceto a presença de dois pontos junto do bordo anterior dos olhos. Protórax mais longo que largo, estreitado

[1] Recebido para publicação a 11 de abril de 1960.

Trabalho elaborado na Seção de Entomologia Agrícola do Instituto de Ecologia e Experimentação Agrícolas, sob os auspícios do Instituto de Economia Rural (Chefe da Seção: Benedicto A. M. Soares).

adiante e atrás, dorsalmente com forte depressão longitudinal, bem visível, e um tanto comprimido adiante do meio. Com fortes rugas dorsais de um lado e de outro no 1/3 posterior e com rugas mais finas, laterais, no 1/3 anterior. Metasterno com sulco longitudinal muito raso na metade posterior, o qual termina em fóvea muito funda. Abdômen com largo sulco longitudinal. 4.º segmento abdominal com fila transversal de minúsculos pontos, 5.º com minúsculos pontos densamente distribuidos na parte posterior. Élitros anteriormente um tanto oblíquos, posteriormente truncados e com curto e espesso espinho no ângulo interno, a primeira estria com fundo sulco, as demais com filas longitudinais de grossos e fundos pontos, interstícios bem distintos, com a seguinte distribuição de faixas de contraste: 2.ª com curta pós-mediana; 3.ª com larga faixa basal que vai até quase o meio, curta pós-basal e curta apical; 4.ª com curta mediana e ponto pós-mediano; 5.ª com curta basal, curtíssimas mediana e pós-mediana; 6.ª com curta mediana; 7.ª com ponto ante-mediano e curta pós-mediana; 8.ª com longa pós-umeral; 9.ª com curta apical. Patas normais, as tíbias do 1.º par com dentículo mediano interno.

Colorido fundamental castanho-avermelhado, um tanto fosco, face ventral, patas em parte, rostro e antenas um pouco brilhantes. Protórax com duas negras faixas longitudinais dorso-laterais e com anel negro completo no bordo anterior. Cabeça, rostro e antenas irregularmente enegrecidos, trocânteres e base dos fêmures enegrecidos.

No parátipo o 2.º interstício possui também uma faixa alongada ante-mediana e o ponto pós-mediano do 4.º interstício se apresenta como curta faixa.

Holótipo macho, Brasil, Amazonas, Tabatinga, coligido por E. S. Lima, em julho de 1958, depositado na coleção Campos Seabra. Parátipo macho, Brasil, Amazonas, Benjamin Constant, Rio Itecoal, coligido por A. Parko, em junho de 1942, depositado na coleção Campos Seabra.

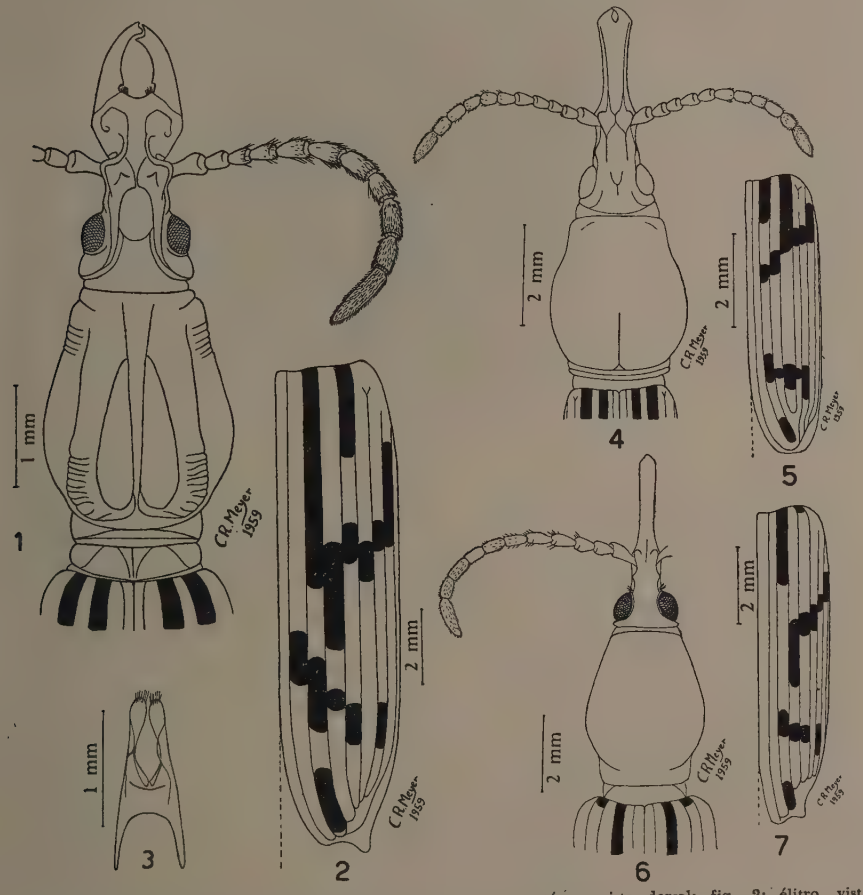
É afim de *V. dispar* (L., 1758), de que se distingue pelos seguintes caracteres: o protórax é deprimido, de um lado e de outro, acima da porção mais dilatada, é sulcado longitudinalmente no meio e rugoso tanto dos lados da porção mais estreita anterior, como dorsalmente, no 1/3 posterior (fig. 1); a cabeça em quase todo o espaço interocular tem sulco raso e plano, o que representa tipo intermediário entre a cabeça de *V. denticollis* (Gyll.) e de muitas outras espécies, entre as quais *V. dispar* (L.); o desenho ornamental dos élitros é diferente, havendo faixa basal no 5.º interstício (em *V. dispar* ausente ou reduzida a um ponto), no 2.º, além da faixa pós-mediana, pode haver outra, mais longa, ante-mediana, além de outras diferenças menores; as tíbias I possuem internamente agudo espinho mediano, reduzido a pequeno tubérculo em *V. dispar;* os parâmeros são nìtidamente diferentes.

Vianodes nordestinus sp. n.

(Figs. 4 e 5)

Macho — Comprimento 13,0 mm. Protórax: comprimento 3,5 mm; largura 2,5 mm.

Cabeça convexa, mais larga que longa, mais estreita adiante que atrás, com rasa depressão inter-ocular e prolongada posteriormente em ore-



Vianodes depressus sp. n. — Fig. 1: Cabeça, rostro e protórax, vista dorsal; fig. 2: élitro, vista dorsal; fig. 3: parâmeros. *Vianodes nordestinus* sp. n. — Fig. 4: Cabeça, rostro e protórax, vista dorsal; fig. 5: élitro, vista dorsal. *Vianodes facetus* (Kleine, 1927) — Fig. 6: Cabeça, rostro e protórax, vista dorsal; fig. 7: élitro, vista dorsal.

lhas muito pouco acentuadas, a face ventral com grossos pontos e com fóvea gular na base. Meta-rostro muito mais curto que o pro-rostro, quadrangular, com largo e fundo sulco dorsal que termina no meso-rostro, com um sulco de cada lado, com uma carena ventral que se continua pelo meso-

rostro com dupla fila de grossos pontos ventrais e com 3 ou 4 pontos laterais muito grossos. Meso-rostro com sulco linear dorsal. Pro-rostro alongado, dilatado apenas no ápice, com raso sulco dorsal na metade basal; mandíbulas pequenas. Antenas medíocres, todos os artículos mais longos que largos. Protórax mais longo que largo, estreitado adiante e atrás, inteiro e sem escultura. Metasterno com acentuada fóvea e sulco linear obsoleto na metade posterior. Abdômen largamente sulcado, 5.º segmento com minúsculos pontos irregularmente distribuídos. Élitros truncados na base e posteriormente arredondados, a primeira e segunda estrias fundas e com filas de pequenos pontos, as seguintes com grossos e fundos pontos, interstícios com a seguinte distribuição de faixas de contraste: 3.º com curta basal, com ponto ante-mediano, com curta pós-mediana e curta apical; 4.º com curtíssima ante-mediana e com ponto pós-mediano; 5.º com basal e curtíssima pós-mediana; 6.º com curtíssima pós-umeral e ponto pós-mediano; 7.º com curtíssima pós-umeral e curtíssima pós-mediana; 8.º com curta pós-umeral. Fêmures posteriores lamelados na base, tíbias do 1.º par com espessamento interno no meio.

Colorido fundamental vermelho-píceo, um tanto brilhante, as faixas ornamentais dos élitros alaranjadas, protórax, face inferior e élitros mais escuros.

Holótipo macho, Brasil, Paraíba, Juazeirinho, Soledade, coligido por G. A. Silva, em 22-III-1956, depositado na coleção Campos Seabra.

Fêmea — Comprimento 17,0 mm. Protórax: comprimento 4,0 mm; largura 3,0 mm.

Cabeça mais larga que longa, mais estreita adiante que atrás, com estreita depressão entre os olhos, meta-rostro largamente sulcado. Cabeça, meso-rostro e meta-rostro com fila dupla de pontos. Abdômen muito pouco sulcado no meio. Fêmures posteriores não lamelados na base. Pro-rostro muito mais longo que o meta-rostro, filiforme.

Alótipo fêmea, Brasil, Paraíba, Juazeirinho, Soledade, coligido por G. A. Silva, em 22-III-1956, depositado na coleção Campos Seabra.

Vianodes nordestinus sp. n. difere das demais espécies do gênero por apresentar os fêmures posteriores lamelados. Além disso, as mandíbulas pequenas e o seu "facies" o afastam do grupo em aprêço. Não encontrando outro gênero que pudesse receber mais fàcilmente a espécie, resolvemos, provisòriamente, mantê-la aí. Com a revisão de gêneros afins, julgamos provável a criação de um futuro gênero para recebê-la.

Vianodes facetus (Kleine, 1927)

(Figs. 6 e 7)

Fêmea — Comprimento 17,5 mm. Protórax: comprimento 4,0 mm; largura 3,0 mm.

Cabeça mais larga que longa. Pro-rostro muito mais comprido que o meta-rostro, filiforme. Meta-rostro com largo sulco dorsal limitado lateral-

mente por uma quilha. Élitro com ponto umeral no 5.º interstício. Abdômen inteiro. Face inferior da cabeça, do meta-rostro e do meso-rostro, como no macho, com dupla fila de grossos pontos. No mais semelhante ao macho.

Alótipo fêmea, Brasil, D. F., Guaratiba, coligido por J. H. Guimarães, em XII-1955, depositado na coleção da Seção de Entomologia Agrícola do Instituto de Ecologia e Experimentação Agrícolas.

ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Arbeit werden vom Verfasser Studien über die Systematik einiger Arten von Coleopteren von der Familie der Brentiden vorgelegt. Er beschreibt zwei neue Arten (*Vianodes depressus* sp. n. und *V. nordestinus* sp. n.), un der Allotype von *Vianodes facetus* (Kleine, 1927).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Blackwelder, R. E., 1947, Checklist of the Coleopterous Insects of Mexico, Central America, The West Indies, and South America, Part 5. *U. S. Nat. Mús., Bull.* 185:771-777.

Haedo Rossi, J. A., 1955, Notas Brentidológicas I (Coleopt.). *Neotropica,* 1 (4):61-64.

Kleine, R., 1923, Bestimmungstabelle der Gattung *Arrhenodes* Schoenherr. *Arch. Naturg.,* 89 A 4:169-180, 16 fig.

Kleine, R., 1923, De Brenthidarum Musei Nationalis Prazae speciebus novis. *Sborn. ent. N. Mus. Praze,* 1 (4):48-54, 8 fig.

Kleine, R., 1927, Novos gêneros e espécies da fam. *Brenthidae (Coleopt.)* da Zona Neotrópica. *Rev. Mus. Paulista,* 15:421-542, 3 ests.

Kleine,, R. 1927, *Coleopterorum Catalogus,* auspiciis et auxilio W. Junk, editus a S. Schenkling, Pars 89:1-94.

Kleine, R., 1938, *Coleoptera. Fam. Brenthidae. Genera Insectorum,* 207:197 pp., 6 pls., 6 figs.

Kleine, R., 1939, Bestimmugstabelle der Brenthidae. *Ent. NachrBl.,* 12 (2):65-80 [IX-1938].

Kleine, R., 1944, Neue Brenthiden der Pariser Museums (Coleoptera). *Rev. Franç. Ent.,* 10 (4):149-158, 11 figs.

Schoenherr, C. J., 1833, *Genera et Species Curculionidum,* 1:681 pp., Corrigenda 3 pp.

Schoenherr, C. J., 1840, *Genera et Species Curculionidum,* 5:970 pp., Corrigenda 4 pp.

Senna, A., 1897, Descriptions de quelques espèces de Brenthides du Musée royale et de ma collection. *Ann. Soc. Ent. Belg.,* 41:227-236.

Sharp, D., 1895, Brenthidae. *Biol. Centr.-Amer. Coleopt.,* 4 (6):1-80, 384, 3 pls.

Rev. Brasil. Biol., 20 (2) : 149-153
Setembro, 1960 — Rio de Janeiro, Gb.

ANALGESOIDEA NEOTROPICAIS. VIII: Acarinos plumícolas parasitas de aves do Brasil [1]

HERBERT FRANZONI BERLA
Museu Nacional, Rio de Janeiro, Guanabara

(Com 13 figuras no texto)

Êste trabalho contém a descrição de duas espécies novas da família *Analgesidae,* subfamília *Analgesinae* e a redescrição de *Thysanocercus cypseli longitarsus* (Trouessart, 1899), espécie da família *Proctophyllodidae,* subfamília *Alloptinae*.

Metanalges (Agrialges) saracura sp. n.

(Figs. 1-4)

Aspecto geral mais longo que largo. Epímeros I em forma de V. Patas III muito desenvolvidas. Abdômen bilobulado. Fenda interlobular em forma de V invertido.

Macho — Comprimento total 0,72 mm.

Placa do epístoma (fig. 2) fortemente quitinizada, apresentando duas suturas onde a quitina é mais densa. Apresenta ainda a placa do epístoma um par de pêlos no vertix (diacotríquio) e basalmente 2 pares de cerdas, sendo o par externo muito longo. Placa notogástrica quitinizada, com 2 pares de cerdas (fig. 3). Epímeros I em forma de V, epímeros II livres e cuneiformes.

Abdômen bilobulado com 4 pares de cerdas (fig. 1). Fenda interlobular em forma de V invertido. Pênis pequeno, encimado por um epiândrio fortemente quitinizado e implantado pouco acima do nível da inserção das patas IV (fig. 1). Patas III muito mais fortes que as demais, com o artículo V apresentando ventosas ambulacrais e um aguilhão hialino ligeiramente bífido,

[1] Recebido para publicação a 29 de abril de 1960.
Trabalho realizado sob os auspícios do Conselho Nacional de Pesquisas.

como na fig. 4. Patas IV subabdominais. Ventosas copuladoras situadas lateralmente ao fundo da fenda interlobular. Pêlos ventrais em número de 6 pares (fig. 1).

Material examinado — Holótipo macho, lâmina n.º 287 e parátipo macho n.º 304. Hospedador *Aramides saracura* (Spix, 1825). No Museu Nacional do Rio de Janeiro.

Procedência do hospedador — Santa Teresa, Estado do Espírito Santo.

Distribuição geográfica do hospedador — Sudeste do Brasil (Rio de Janeiro, leste de Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul) (seg. Oliverio Pinto).

Metanalges (Agrialges) saracura sp. n. é próximo de *Metanalges (Agrialges) eurytarsus* Gaud & Mouchet, 1959. Podemos separá-las como segue:

1 — Abdômen bilobulado. Lóbulos abdominais separados por uma estreita fenda de bordos paralelos sem membrana interlobular. Artículo V (tarso) das patas III com um enorme aguilhão cônico hialiano duas vêzes mais longo que o tarso, terminando em ponta .....
..... *Metanalges (Agrialges) eurytarsus* Gaud & Mouchet, 1959.

2 — Abdômen bilobulado. Lóbulos abdominais separados por uma fenda em V invertido sem membrana interlobular. Artículo V (tarso) das patas III com um aguilhão hialino apicalmente truncado e ligeiramente bífido .....
..... *Metanalges (Agrialges) saracura* sp. n..

Metanalges (Agrialges) porzana sp. n.

(Figs. 5-8)

Aspecto geral mais longo que largo. Epímeros I em forma de V. Patas III muito desenvolvidas. Abdômen bilobulado. Fenda interlobular profunda (fig. 7).

Macho — Comprimento total 0,70 mm.

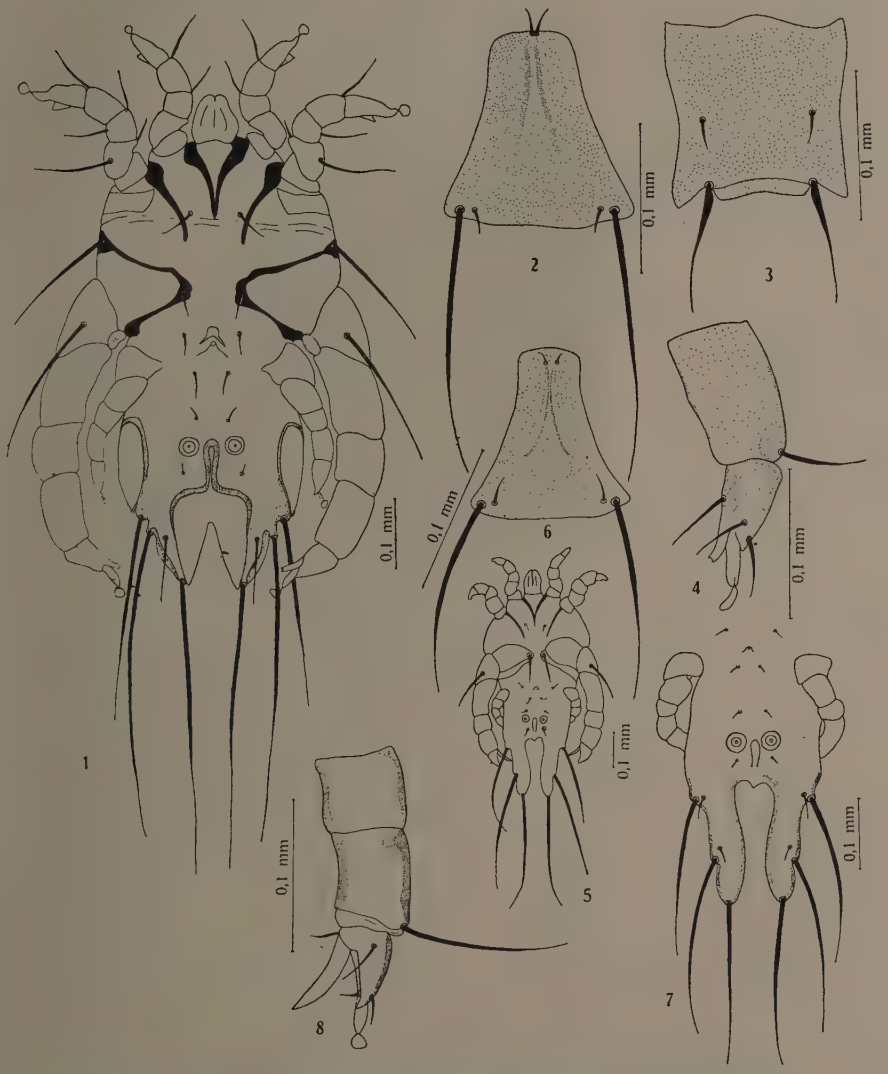
Placa do epístoma fortemente quitinizada, com 3 pares de pêlos e duas suturas, como na fig. 6. Placa notogástrica semelhante à de *Metanalges (Agrialges) saracura*. Epímeros I em forma de V, epímeros II livres e cuneiformes.

Abdômen fortemente bilobulado, com a fenda interlobular profunda e com 3 pares de cerdas longas marginais dispostas como na fig. 7. Pênis muito pequeno implantado ao nível das patas IV. Patas III muito desenvolvidas, com o artículo V (tarso) munido de um aguilhão hialino pontudo mais longo que êle (fig. 8). Ventosas ambulacrais presentes. Patas IV subabdominais curtas e robustas. Ventosas copuladoras bem desenvolvidas e situadas como na fig. 7. Pêlos ventrais em número de 6 pares (fig. 5).

Material examinado — Holótipo macho n.º 276 e parátipos machos ns. 305-306. No Museu Nacional do Rio de Janeiro.

Hospedador — Porzana albicollis albicollis (Vieillot, 1819).

Procedência do hospedador — Pau Gigante, Estado do Espírito Santo.



Metanalges (Agrialges) saracura sp. n. — Fig. 1: Aspecto geral do macho, face ventral; fig. 2: placa do epistoma; fig. 3: placa notogástrica; fig. 4: pata III (artículos IV e V). *Metanalges (Agrialges) porzanae* sp. n. — Fig. 5: Aspecto geral do macho, face ventral; fig. 6: placa do epístoma; fig. 7: lóbulos abdominais, face ventral; fig. 8: pata III (artículos IV e V).

Distribuição geográfica do hospedador — Paraguai, norte da Argentina, leste do Brasil: São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Sul de Goiás e Bahia. (seg. Oliverio Pinto, 1938).

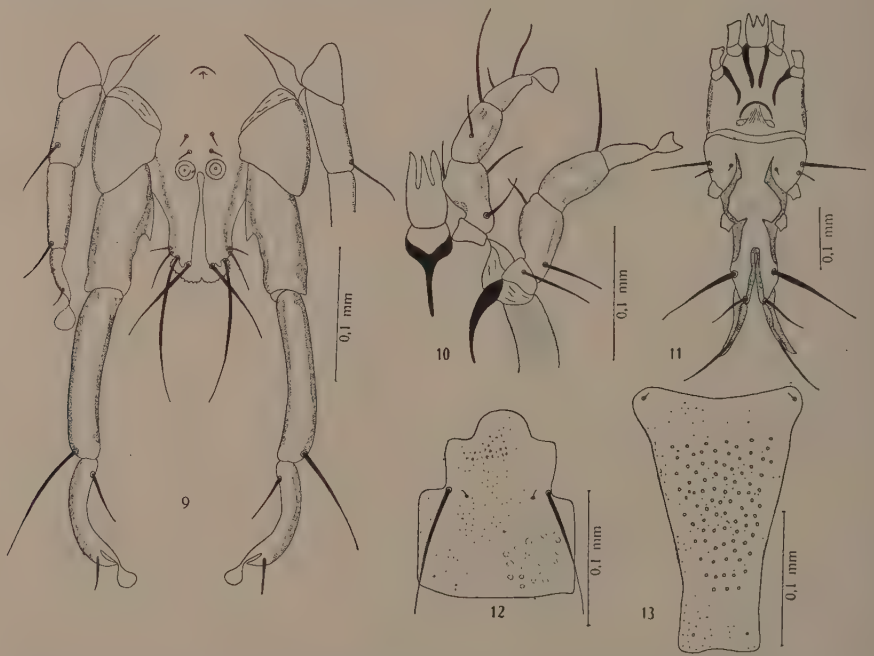
Esta espécie distingue-se fàcilmente das outras do gênero, por apresentar os lóbulos abdominais muito longos e a fenda interlobular profunda como na fig. 7.

Thysanocercus cypseli longitarsus (Trouessart, 1899)

(Figs. 9-13)

Êste gênero foi separado por Gaud & Mouchet, 1957, do gênero *Alloptes* Canestrini, 1879 no qual Trouessart (1899) havia incluído a espécie em estudo.

Os machos de *Thysanocercus* Gaud & Mouchet, 1957 são muito parecidos com os de *Alloptes* Canestrini, 1879; as fêmeas, no entanto, diferem bastante, separando-se fàcilmente pelo aspecto dos lóbulos abdominais, que apresentam dois apêndices em forma de fôlha com os bordos finamente pregueados e munidos de uma cerda terminal (fig. 13).



Thysanocercus cypseli longitarsus (Trouessart, 1899) — Fig. 9: Parte posterior do macho, face ventral; fig. 10: parte lateral anterior, face ventral; fig. 11: aspecto geral da fêmea, face ventral; fig. 12: placa do epístoma da fêmea; fig. 13: placa notogástrica da fêmea.

Aspecto geral mais longo que largo. Epímeros I fortemente soldados em forma de Y. Patas IV muito desenvolvidas e apresentando um esporão na parte interna dos artículos II. Tarsos falsiformes munidos de ventosas ambulacrais.

Macho — Comprimento total 0,37 mm.

Placa do epístoma e notogástrica quitinizadas sem ornatos. Epímeros I em forma de Y , epímeros II cuneiformes (fig. 10).

Abdômen bilobulado, porém completamente vedado por uma membrana hialina, cujas margens são denticuladas. Lóbulos com 4 pares de cerdas (fig. 9). Pênis pequeno, encimado por um epiândrio em arco. Patas I e II iguais duas a duas, sem apófises ou espinhos, munidas de pêlos e ventosas ambulacrais (fig. 10). Patas III muito mais curtas que as patas IV, as quais apresentam um esporão na parte média interna do artículo II. Artículos III mais longos que os demais e artículos IV falciformes (fig. 9). Ventosas copuladoras situadas lateralmente ao fundo da fenda interlobular.

Fêmea — Comprimento total 0,49 mm (fig. 11).

Placa do epístoma escutiforme e ornada com inúmeras rosetas de quitina (fig. 12). Placa notogástrica como na fig. 13. Epímeros I e II livres e cuneiformes (fig. 11).

Abdômen bilobulado, terminado por apêndices em forma de fôlha, finamente pregueados e munidos na extremidade distal de uma cerda cilíndrica. Cada lóbulo apresenta, além do apêndice foliáceo, mais duas cerdas (fig. 11). Vulva com epígino em arco (fig. 11).

Material examinado — Machos ns. 218, 219 e 288, fêmeas ns. 220, 290, 293 e 307. No Museu Nacional do Rio de Janeiro.

Hospedador — *Streptoprocne zonaris zonaris* (Shaw, 1796).

Procedência do hospedador — Norte da Argentina. Bolívia, Brasil: Mato Grosso, Minas Gerais, São Paulo e Rio Grande do Sul (seg. Oliverio Pinto, 1938).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Canestrini, G., 1879, Intorno ad alcuni parasite. *Atti Soc. Pad.*, 6:32-42, figs. 1-4. (Obra não consultada).

Gaud, J. & Mouchet, J., 1957, Acariens plumicoles (Analgesoidea) des Oiseaux du Cameroun. I. Proctophyllodidae. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 32 (5-6):491-546, figs. 1-30.

Gaud, J. & Mouchet, J., 1959, Acariens plumicoles (Analgesoidea) parasites des oiseaux du Cameroun. II. Analgesidae. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 34 (1-2):149-208, figs. 1-26.

Pinto, O. M. O., 1938, Catálogo das Aves do Brasil e lista dos exemplares que as representam no Museu Paulista. *Rev. Mus. Paul.*, 22:XIII + 566 p.

Trouessart, E., 1899, Diagnoses préliminaires d'espèces nouvelles d'Acariens plumicoles. Additions et corrections a la sous-familie de Analgésinis. *Bull. Soc. Etud. Sci. Angers*, n. s., 12:1-62.

Rev. Brasil. Biol., 20 (2) : 155-162
Setembro, 1960 — Rio de Janeiro, Gb.

ATIVIDADE BIOLÓGICA DE UMA PREPARAÇÃO DE PÓ DE DIGITAL NACIONAL (L.F.B. 1959) E DOS PADRÕES U.S.P. (1942) E W.H.O. (1949) [1]

JOSÉ RIBEIRO DO VALLE e JOSÉ LEAL PRADO
Laboratórios de Farmacologia e Bioquímica, Escola Paulista de Medicina, São Paulo

A análise fiscal de preparações digitálicas neste Setor, a partir de 1956, mostrou a conveniência em adotar, com algumas modificações, o ensaio biológico em pombos descrito na última revisão da Farmacopéia norteamericana (U.S.P. XV) (1).

A descrição do método e os primeiros resultados de análises de preparados digitálicos apreendidos pelo Serviço de Fiscalização do Exercício Profissional já constituiram matéria de trabalho anterior (2). Assinalávamos, então, a necessidade de estabelecer-se, entre nós, um padrão secundário de pó de fôlhas de digital aferido pelo padrão internacional.

Tivemos a oportunidade de ensaiar a preparação L.F.B. 1959 dêstes Laboratórios e de comparar a sua atividade biológica com a dos padrões obtidos nos Estados Unidos (U.S.P. 1942) e na Inglaterra (W.H.O. 1949).[2]

Os resultados dos ensaios realizados até agora com essas 3 preparações constituem o assunto dêste trabalho.

PADRÕES E TÉCNICA

Padrão U.S.P. (1942) — U.S.P. *Digitalis Reference Standard* (1942), ampola-ambar, contendo aproximadamente 3.1 g de pó de fôlhas de digital, 0.10 g equivalentes a 1 unidade U.S.P., distribuida pelo "Board of Trustees of the United States Pharmacopoeial Convention".

---

[1] Recebido para publicação a 1 de junho de 1960.

Trabalho dos Laboratórios de Farmacologia e Bioquímica da Escola Paulista de Medicina e da Seção de Fisiologia Aplicada (Divisão de Bromatologia e Química) do Instituto Adolfo Lutz, realizado com auxílio do Conselho Nacional de Pesquisas e da Fundação Rockefeller.

[2] Agradecemos ao Prof. H. B. VAN DYKE, de N. York, e ao Dr. N. AMBACHE, de Londres, a gentileza das amostras recebidas em julho de 1959.

Padrão W.H.O. (1949) — Digitalis International Standard, 76 mg equivalentes a 1 unidade internacional, ampola incolor contendo aproximadamente 2.5 g, distribuida para a Organização Mundial de Saúde pelo "National Institute for Medical Research", de Londres.

Preparação L.F.B. (1959)[3] — Êste Setor dispõe de 180 ampolas ambar contendo cada uma, aproximadamente, 2.1 g de uma mistura de pós obtidos de fôlhas de digital cultivada em Rio do Sul, no Estado de Santa Catarina, em Campos de Jordão e no Instituto Agronômico de Campinas (3).

Os ensaios desta Preparação L.F.B. foram feitos contra o padrão U.S.P. 1942 e contra o padrão W.H.O. 1949.

Animais — Empregam-se pombos adultos, de ambos os sexos, em condições aparentes de boa saúde, adquiridos de fornecedores profissionais. O pombo de maior pêso não deve pesar mais do que duas vêzes o pêso do pombo mais leve. Os animais, de regra em número de 14 para cada ensaio, 7 para cada solução, são marcados, pesados de véspera e no dia do ensaio, deixados sem alimento, mas com água durante 18 a 24 horas. O agrupamento deve ser feito por sorteio (*casualização*).

Anestesia e Contenção — Anestesiam-se os animais pelo emprêgo do pentobarbital sódico, 100 mg em 10 ml de NaCl a 0.9%, injetado na musculatura peitoral na dose de 30 mg/kg.

Assim anestesiados superficialmente, os pombos são contidos em pranchas de madeira, presos pelas asas graças a taboinhas fixadas por dobradiças e borboletas.[4]

Injeções — Após dissecção da veia da asa e introdução de agulha montada em tubo plástico de polietileno, p. ex. *Adams* PE 50, em todos os animais, iniciam-se as injeções endovenosas da solução a ensaiar, no volume de 1 ml/kg, com intervalo de 5 minutos entre uma injeção e outra, repetidas até a morte do animal.

Soluções ensaiadas — A solução do padrão e a do *desconhecido,* usadas dentro de 30 dias da respectiva preparação,[5] são diluidas no dia do ensaio em salina heparinizada (0.2 ml $\simeq$ 1.000 u. i. em 100 ml de NaCl a 0.9%). Nas condições habituais a diluição final do padrão corresponde a 0.075 u. i./ml; no volume de 0.2 a 0.3 ml por injeção mata o pombo em tôrno da 14.ª dose.

Considera-se válido o ensáio quando a média das injeções letais fica compreendida entre a 12.ª e a 20.ª doses.

---

[3] Agradecemos aos Laboratórios Wander, Laborterápica-Bristol e Rhodia a colaboração recebida na obtenção e no preparo dêste Padrão secundário.

[4] A prancha de madeira, para 2 a 6 pombos, e que pode ser colocada em cima da mesa do Laboratório, foi adaptada de modêlo descrito por Fisher & Sutol (4).

[5] Para a preparação da solução *stock* foram seguidas as instruções da U.S.P. XV (p. 213).

Cálculo — Determinada a cardiotoxicidade para o pombo das soluções ensaiadas contemporâneamente, calcula-se a potência da solução desconhecida em relação à potência da solução tomada como padrão.

A potência é calculada pela relação entre as médias de injeções letais, levada em conta a diluição das amostras.

Além da relação de potência referem-se os limites fiduciais dessa relação considerada a probabilidade de 95% (19 vêzes em 20). O cálculo dêsses limites é descrito na U.S.P. XV (p. 877) e vem exemplificado também por REMINGTON, p. 1369 (5) (Apêndice A).

A toxicidade da solução desconhecida poderá ser ainda referida em mg/kg de pombo levando-se em conta que a unidade internacional de pó padrão de fôlhas de digital é a atividade existente em 76 mg do pó W.H.O. (1949) e pràticamente igual a 100 mg de pó U.S.P. 1942 (Apêndice B).[6]

RESULTADOS E COMENTÁRIOS

Os resultados obtidos nos nossos ensaios, conforme a técnica acima descrita, vêm resumidos no Quadro 1. Os quatro primeiros ensaios com a preparação U.S.P. foram feitos em 1957, com amostra do padrão devidamente conservada no Instituto Adolfo Lutz (2). Os três ensaios seguintes (V-VII) foram feitos com amostra gentilmente trazida pelo Prof. H. B. VAN DYKE. As médias obtidas nesses diferentes ensaios, apesar de mais de 2 anos de intervalo, não diferem significativamente entre si, representando os valores 124 ± 2.7 mg/kg a toxicidade para o pombo da preparação U.S.P. 1942. As médias gerais e respectivos erros padrões $(\frac{s}{\sqrt{n}})$ assinalados no Quadro 1 para as demais preparações mostram que o padrão W.H.O. 1949 é mais ativo do que o padrão U.S.P. 1942 e que a nossa preparação L.F.B. 1959 tem, em pêso, atividade biológica mais próxima do padrão W.H.O. do que do padrão U.S.P.

No Quadro 2 vêm a relação de potência e os limites fiduciais obtidos nos diferentes ensaios comparativos e concomitantes da preparação L.F.B. com os dois padrões. Em média, 70 mg de L.F.B. correspondem a 100 mg de U.S.P. e 83 de L.F.B. a 76 mg de W.H.O. Escolhemos a dose de 80 mg de L.F.B. 1959 como contendo a atividade definida como 1 unidade internacional. Assim, 100 mg U.S.P. = 80 mg de L.F.B. = 76 mg de W.H.O. = 1 unidade internacional de pó de fôlhas de digital.

Não constituiu objeto dêste trabalho comparar ambos os padrões e nem determinar, num mesmo ensaio, a sua relação de potência. Calculada, porém,

[6] Os comités especializados da Farmacopéia norteamericana e da Organização Mundial de Saúde, trabalham em estreita colaboração inclusive para que os respectivos padrões tenham pràticamente a mesma potência.

QUADRO 1

Ensaio biologico em pombos de padrões digitálicos

Data do ensaio	Número do ensaio	Solução ensaiada	Número de pombos usados	Média ao número de injeções letais	Dose letal média e êrro padrão mg/kg
		Pó Padrão U. S. P. 1942			
4- 6-1957	I	10 mg/ml	7	13.4	133 ± 16
5- 6-1957	II	9 »	7	13.3	118 ± 14
12- 6-1957	III	9 »	7	14.1	131 ± 27
14- 6-1957	IV	9 »	7	12.4	115 ± 19
5-11-1959	V	7.5 »	8	15.5	116 ± 13
6-11-1959	VI	7.5 »	8	16.9	131 ± 17
19-11-1959	VII	7.5 »	7	15.9	121 ± 14
				Média geral e êrro padrão	124 ± 2.7
		Pó Padrão W. H. O. 1949			
26-11-1959	I	5.75 mg/ml	8	13.3	76 ± 8
27-11-1959	II	5.75 »	7	13.4	79 ± 12
1-12-1959	III	5.75 »	7	15.4	88 ± 9
11- 3-1960	IV	5.70 »	11	13.1	76 ± 8
				Média geral e êrro padrão	80 ± 2.5
		Pó Padrão L. F. B. 1959			
5-11-1959	I	6.25 mg/ml	7	13.7	87 ± 9
6-11-1959	II	6.25 »	8	13.5	86 ± 5
19-11-1959	III	6.25 »	7	13.1	86 ± 17
26-11-1959	IV	6.25 »	7	13.9	88 ± 10
27-11-1959	V	6.25 »	8	12.7	80 ± 12
1-12-1959	VI	6.25 »	6	13.7	84 ± 10
11- 3-1960	VII	6.00 »	13	15.3	92 ± 8
				Média geral e êrro padrão	86 ± 1.3

esta relação, a partir de ensaios em dias diferentes, encontrou-se a relação média de 0.65 ao invés de 0.76 teórica ($\frac{W.H.O.}{U.S.P.} = \frac{76\,mg}{100\,mg}$). O padrão U.S.P. exibiu, portanto, nas nossas condições experimentais, 86% da atividade do padrão W.H.O.

Embora não tenha sido feita análise estatística exaustiva dos resultados apresentados, a correspondência da unidade aqui proposta para a preparação L.F.B. 1959, como sendo a atividade contida em 80 mg, pode, no nosso entender, ser aceita na prática. Nessas condições, a relação de poténcia entre o padrão W.H.O. e a preparação L.F.B. fica sendo, teòricamente, de 0.95 ($\frac{W.H.O.}{L.F.B.} = \frac{76}{80}$) quando na média dos ensaios realizados foi de 0.93 ($\frac{W.H.O.}{L.F.B.} = \frac{80}{86}$) (Quadros 1 e 3), uma diferença, portanto, de apenas 2%.

É óbvio que a disponibilidade de um padrão secundário de pó de fôlhas de digital, aceito oficialmente,* virá facilitar, entre nós, a realização de ensaios biológicos de preparados digitálicos e a interpretação dos resultados obtidos nas análises fiscais e contraprovas.

QUADRO 2

Ensaio biológico em pombos do padrão de pó de fôlhas de digital nacional L.F.B. contra os pós padrões U.S.P. (1942) e W.H.O. (1949)

Data	Ensaio n.º	Relação de potência e limites fiduciais	mg de L.F.B. correspondentes a 1 U.I.
		L. F. B. × U. S. P.	
5–11–1959	I	1.36 ± 0.17	74 (66 — 83)
6–11–1959	II	1.51 ± 0.16	67 (60 — 75)
19–11–1959	III	1.48 ± 0.34*	68 (55 — 88)
		Média	70
		L. F. B. × W. H. O.	
26–11–1959	I	0.88 ± 0.11	86 (77 — 98)
27–11–1959	II	0.97 ± 0.18	78 (66 — 96)
1–12–1959	III	1.03 ± 0.19	75 (62 — 90)
11– 3–1960	IV	0.83 ± 0.08	92 (84 — 101)
		Média	83

* O valor alto de L (2 × 0.34 = 0.68) depõe contra êste ensaio.

Queremos agradecer a colaboração recebida do Sr. Fco. João Baptista Domingues, no preparo do L.F.B. 1959 e da Fca. Neide Hipolito, nossa auxiliar, na realização dos ensaios biológicos.

* O Laboratório Central de Drogas e Medicamentos (Serviço do Prof. Raymundo Moniz de Aragão), por Portaria publicada no Diário Oficial de 19 de abril de 1960, resolveu: N. 2 — Adotar como subpadrão nacional, a ser usado nos exames oficiais de produtos farmacêuticos, plantas e drogas usadas na preparação dêstes, a mistura estabilizada de pós de fôlhas de *Digitalis purpurea*, preparada na Seção de Farmacologia e Bioquímica da Escola Paulista de Medicina. O subpadrão nacional estabelecido pela presente Portaria tem a potência correspondente a 1 (uma) unidade internacional em 80 mg (oitenta miligramas) e esta encerrado em ampôlas de vidro, seladas a fogo, acondicionadas em estojos de cartolina sob sêlo com a assinatura do Diretor do Laboratório Central de Contrôle de Drogas e Medicamentos. O emprêgo do referido padrão tornar-se-á obrigatório 60 (sessenta) dias depois da publicação da presente Portaria.

QUADRO 3

Comparação da atividade de preparações — Padrão de digital

Preparações**	Relação de potência*		
	Teórica	Encontrada ou calculada	Diferença
W.H.O. / U.S.P.	0.76	0.65	15%
W.H.O. / L.F.B.	0.95	0.93	2%
L.F.B. / U.S.P.	0.80	0.69	14%

* A relação menor do que a unidade significa ser o padrão-numerador mais ativo do que o denominador.

** Equivalência: 76 mg de W.H.O., 80 mg de L.F.B. e 100 mg de U.S.P. correspondem a 1 unid. de internacional (W.H.O. > L.F.B. > U.S.P.).

APÊNDICE "A"

CÁLCULO DA RELAÇÃO DE POTÊNCIA

L.F.B. x W.H.O.

ENSAIOS: I e IV — U = N.º de injeções letais para L.F.B.

DATA: 26.11.1959 — S = N.º de injeções letais para W.H.O.

L. F. B.		*W. H. O.*	
U	U^2	S	S^2
13	169	15	225
11	121	13	169
15	225	12	144
14	196	15	225
16	256	12	144
15	225	14	196
13	169	14	196
		11	121
97	1 361	106	1 420
$\bar{v}_u = 13.9$	$f_u = 7$	$\bar{v}_s = 13.3$	$f_s = 8$

Soluções ensaiadas: U = 6.25 mg/ml

S = 5.75 mg/ml

Relação de diluição: $R = \frac{S}{U} = \frac{5.75}{6.25} = 0{,}92$ $\quad n = (f_s + f_u) - 2$

Potência $P = R. \frac{\bar{v}_s}{\bar{v}_u} = 0.92 \times \frac{13.3}{13.9} = 0.92 \times 0.96 = 0.88$ (0.88 U = 1 S)

Variância $S^2 = 2.46$ $\quad t^2 = 4.667$ (13 graus de liberdade p = 0.05)

$C = 1.0085$ $\quad L = 0.22$

$P = 0.88 \pm ½$ $\quad L = 0.88 \pm 0.11$

(A potência do Padrão L.F.B. em relação ao Padrão W.H.O. está compreendida, 19 vêzes em 20, entre 0.77 e 0.99).

APÊNDICE "B"

CARDIOTOXICIDADE DE DIGITÁLICOS PARA O POMBO

ENSAIOS I E IV
DATA: 26.11.1959

Solução ensaiada	Pombo		Número de injeções letais n × ml	Dose letal		
	Número	Pêso (g)		ml	mg	mg/kg
W.H.O. (230 mg/40 ml) 5.75 mg/ml	25	250	13 × 0.25	3.2	18	72
	36	235	15 × 0.30	4.5	26	91
	17	305	12 × 0.30	3.6	21	68
	10	265	15 × 0.25	3.7	21	79
	21	250	12 × 0.25	3.0	17	68
	26	315	14 × 0.30	4.2	24	76
	10	250	14 × 0.25	3.5	20	80
	28	250	11 × 0.25	2.7	15.5	62
				Média e desvio padrão		76 ± 8
L.F.B. (250 mg/40 ml) 6.25 mg/ml	20	250	13 × 0.25	3.2	20	80
	1	205	11 × 0.20	2.2	14	68
	5	230	15 × 0.25	3.7	23	100
	23	245	14 × 0.25	3.5	22	90
	18	235	16 × 0.25	4.0	25	94
	17	300	15 × 0.30	4.5	28	93
	4	265	13 × 0.30	3.9	24	90
				Média e desvio padrão		88 ± 10

RESUMO

Uma preparação de pó de fôlhas de digital nacional — L.F.B. 1959 — foi feita e ensaiada nestes Laboratórios contra os padrões U.S.P. 1942 e W.H.O. 1949 distribuidos por comissões especiais, respectivamente da Farmacopéia norte-americana e da Organização Mundial de Saúde.

Os ensaios realizados, conforme a técnica minuciosamente descrita, mostraram a cardiotoxicidade das três preparações U.S.P., W.H.O. e L.F.B. respectivamente: 123 ± 2.9, 80 ± 3.9 e 86 ± 2.1 mg por kg de pombo.

Aceita a unidade internacional de pó de digital como a atividade biológica existente em 100 mg do padrão U.S.P. 1942 e em 76 mg do padrão W.H.O. foi proposto como padrão secundário a preparação L.F.B. 1959 e a unidade, equivalente à internacional, definida como a atividade contida em 80 mg dessa preparação.

SUMMARY

A preparation of digitalis powder obtained from a mixture of three different sources of Digitalis leaves was standardized by a pigeon method

similar to that described in the XV edition of the U.S. Pharmacopoeia, against both the U.S.P. Digitalis Reference Standard (1942) and the Digitalis International Standard (1949) distributed by the World Health Organization. While the toxicity of the U.S.P. (1942) standard, expressed in milligrams per kilogram of pigeon weight, was 124 ± 2.7 (average and standard error), that of the W.H.O. (1949) standard was 80 ± 2.5 and the toxicity of the secondary standard was 86 ± 1.3 mg/kg. As one International Unit corresponds to 100 mg of the U.S.P. standard or to 76 of the W.H.O. standard, it is here proposed on the basis of the assays run, that 80 mg of the secondary standard, L.F.B. (1959), be accepted as the amount containing the activity equivalent to one I.U.

The availability of a secondary standard, if officially recognized as such, would be helpful in the routine obligatory assays that the pharmaceutical industry and official laboratories in this Country are supposed to make of the digitalis powder preparations found in the market.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. U.S.P. XV, 1955, *The Pharmacopeia of the United States of America*. 15th rev. ed., LII + 1178 pp., Mack Publ. Co., Easton, Pa.

2. Valle, J. R. & Prado, J. L., Ensaio biológico de preparações digitálicas. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* (em impressão).

3. Mello, A. Cesario & Valle, J. R., 1959, Atividade biológica de amostras de dedaleira dos Estados de São Paulo e de Santa Catarina. *Rev. Brasil. Biol.*, 19:303-306.

4. Fisher, H. H. & Sutol, C. A., 1950, A note on the use of pigeons for the assay of digitalis products. *J. Amer. Pharm. Ass.* (Soc. Ed.), 39:422.

5. Martin, E. W. & Cook, E. F., edit., 1956, *Remington's Practice of Pharmacy*. 11th ed., 1717 pp., Mack Publ. Co., Easton, Pa.

Rev. Brasil. Biol., 20 (2) : 163-170
Setembro, 1960 — Rio de Janeiro, Gb.

SÔBRE DOIS PRETENSOS REDUVÍDEOS HEMATÓFAGOS AFRICANOS DO GÊNERO "PANSTRONGYLUS" BERG, 1879 (Reduviidae, Triatominae) [1]

HERMAN LENT
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Guanabara

(Com 4 figuras no texto)

Em 1911 NEIVA descreveu duas espécies de *Triatominae,* que depositou no Museu Zoológico de Berlin, baseado em exemplares únicos rotulados como colecionados na África tropical durante a expedição chefiada por EMIN PACHÁ. Tratava-se de *Triatoma africana* e *T. howardi.*

Essas espécies foram mencionadas por vários autores, no gênero *Triatoma,* até que PINTO (1931), com base no que disse NEIVA em 1914, as transferiu para o gênero *Panstrongylus,* conforme as indicações da sinonímia adiante publicada. Entretanto, ninguém mais observara os mencionados exemplares, que se haviam perdido, segundo as informações pessoais prestadas por frei THOMAZ BORGMEIER e por H. SACHTLEBEN.

Realmente, ao estudar *P. guentheri,* tipo do gênero *Panstrongylus,* NEIVA diz ter encontrado grandes analogias com as espécies paleotrópicas que havia descrito, principalmente no que se refere "à conformação do tórax, cujos lóbulos protorácicos, além de protuberantes, apresentam a mesma estrutura". Foi êsse até o motivo que levou NEIVA a transferir *Panstrongylus* para sinônimo de *Triatoma.*

Ùltimamente, entretanto, êsses 2 exemplares foram encontrados no próprio Museu de Berlim, e, assim, pudemos examiná-los, graças à gentileza do Dr. S. VON KÉLER.

Dessa forma, chegamos às seguintes conclusões: a) os exemplares pertencem mesmo ao gênero *Panstrongylus;* b) não devem ter sido colecionados na África tropical, isto é, houve provável troca de rótulos; c) o que foi denominado *Triatoma africana* é um sinônimo de *Panstrongylus megistus* (Burm.);

---

[1] Recebido para publicação a 6 de junho de 1960.
Trabalho do Instituto Oswaldo Cruz (Divisão de Zoologia Médica, Seção de Entomologia).

d) o que foi denominado *Triatoma howardi* é uma boa espécie que agora redescrevemos e figuramos pela primeira vez, tendo tido ainda a feliz e coincidente oportunidade de conseguir localizar a região em que vive, na República do Ecuador.

Agradecimentos — Somos muito agradecidos aos Drs. S. von Kéler e Luis A. León, que permitiram que tivéssemos a oportunidade de esclarecer a exata posição de duas espécies pràticamente desconhecidas há cêrca de meio século.

Panstrongylus africanus (Neiva, 1911)

Triatoma africana Neiva, 1911: 239
Triatoma africana Neiva, 1914: 6, 32-33
Triatoma africana Del Ponte, 1921: 161, 168-169
Triatoma africana Hussey, 1922: 113
Triatoma africana Pinto, 1925: 71-72, 100
Triatoma africana Del Ponte, 1930:906, 917
Panstrongylus africanus Pinto, 1931: 51, 106
Panstrongylus africanus Neiva & Lent, 1936: 169, 179
Panstrongylus africanus Lent & Pifano, 1940: 630, 632
Panstrongylus africanus Neiva & Lent, 1941: 72, 88
Triatoma africana Lent, 1951: 425
Triatoma africana Lent, 1953: 315, 317

O tipo é um exemplar macho, que tem os seguintes rótulos: África tropical — Emin Pascha (de colorido azul) | Typus (de colorido vermelho) | Triatoma africana A. Neiva (com a letra do autor) |. É um exemplar um tanto descorado, com as asas distendidas, abertas.

Acreditamos ter havido troca de rótulo, pois o gênero é tìpicamente neotrópico e a espécie bem se caracteriza como *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835).

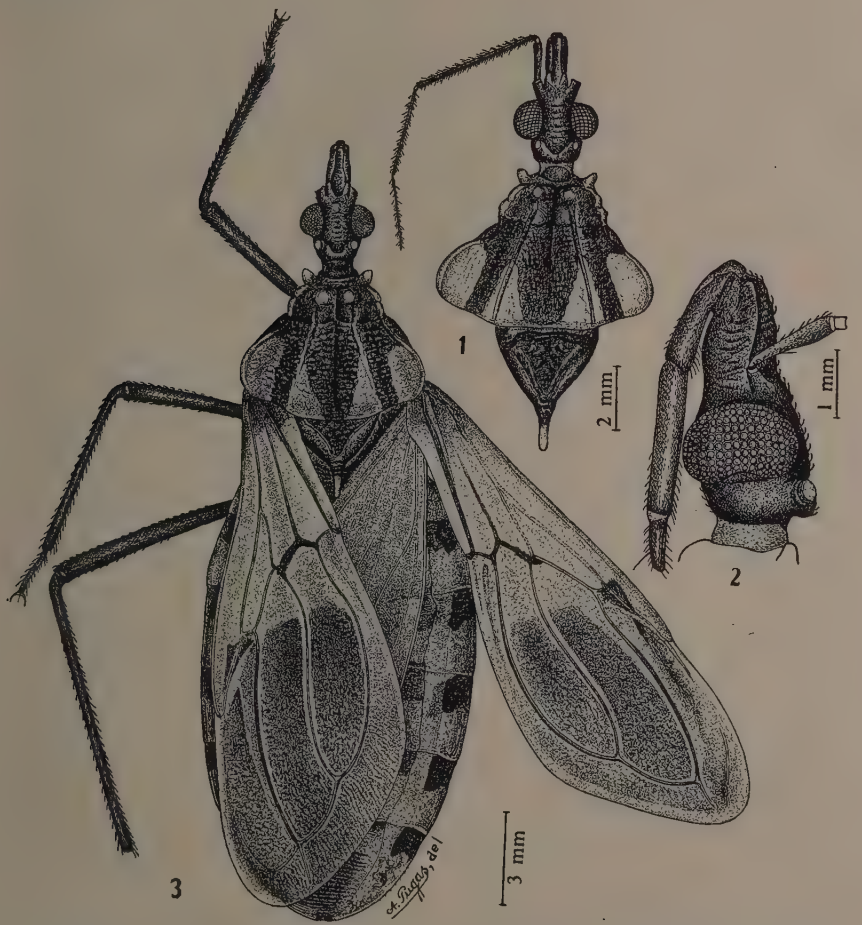
Panstrongylus howardi (Neiva, 1911)

(Figs. 1-3)

Triatoma howardi Neiva, 1911: 240
Triatoma howardi Neiva, 1914: 6, 43-44
Triatoma howardi Del Ponte, 1921: 161, 175
Triatoma howardi Hussey, 1922: 115
Triatoma howardi Pinto, 1925: 72, 100
Triatoma howardi Del Ponte, 1930: 908-909, 917
Panstrongylus howardi Pinto, 1931: 51, 111-112
Panstrongylus howardi Neiva & Lent, 1936: 171, 179
Panstrongylus howardi Lent & Pifano, 1940: 630, 632
Panstrongylus howardi Neiva & Lent, 1941: 72, 88
Triatoma howardi Lent, 1951: 425
Triatoma howardi Lent, 1953: 315, 317

O exemplar tipo, que examinamos, é um macho que se encontra com o abdômen e as asas parcialmente destruidos e tem os seguintes rótulos: África tropical — Emin Pascha (de colorido azul) | Typus (de colorido vermelho) | Triatoma howardi A. Neiva.

Trata-se realmente de um *Panstrongylus,* motivo pelo qual acreditamos ter havido uma troca de rótulo. Damos uma descrição do exemplar, em mau estado de conservação, e publicamos os detalhes ilustrativos que pudemos apresentar (figs. 1 e 2).



Panstrongylus howardi (Neiva, 1911), macho — Fig. 1: Cabeça e tórax, vista dorsal, holótipo; fig. 2: cabeça, perfil, holótipo; fig. 3: total, vista dorsal, exemplar I.O.C., Hem. n.º 1457.

Já havíamos redigido as notas anteriores quando recebemos do Prof. Dr. Luis A. León, da Faculdade de Medicina de Quito (Ecuador), um exemplar de *Panstrongylus* que aquêle colega não conseguia identificar e que logo

determinamos como *P. howardi*. Pudemos, assim, completar a descrição que publicamos a seguir, adicionar um desenho total (fig. 3) e esclarecer a procedência verdadeira da espécie, neotrópica como pensávamos.

Descrição — Macho. Comprimento total 25 mm. Largura (ao nível do pronoto) 6,2 mm; (ao nível do abdômen) 8,5 mm.

Cabeça, tórax e patas de colorido castanho escuro a prêto; abdômen castanho escuro na face ventral e faixa pardacenta longitudinal na margem conexival; conexivo de côr igual a esta faixa e com manchas escuras na metade superior de cada segmento. Tórax com manchas vermelho-alaranjadas distribuidas sôbre os ângulos anteriores, os espinhos e os bordos laterais do lóbulo anterior do pronoto e 2 + 2 manchas no lóbulo posterior e no ápice do escutelo. Revestimento de pequenos pêlos escuros.

Cabeça de colorido uniforme, preta, menor que o pronoto, levemente rugosa no dorso. *Tylus* saliente, mais largo e elevado na base; *genae* de ápice arredondado, quase atingindo o ápice do *tylus; jugae* nítidas, acuminadas. Olhos aproximadamente com a largura igual à distância inter-ocular, quando vistos dorsalmente; de perfil, apenas atingem a face dorsal e avançam sôbre a ventral. Ocelos elevados, grandes, implantados em saliências. Antenas inseridas lateralmente em tubérculos anteníferos implantados logo adiante dos olhos, tubérculos êsses que não possuem saliência lateral; 1.º artículo antenal atingindo o ápice da cabeça, dilatado levemente na metade apical; 2.º artículo de diâmetro aproximadamente igual; 3.º e 4.º artículos mais delgados e com pêlos longos e finos numerosos. Relação — 1 : 3,5 : 2,5 : 2. Rostro triarticulado, achatado; 1.º artículo terminando ao nível da implantação da antena no tubérculo antenífero e 2.º artículo indo até o nível do pescoço. Relação — 1 : 1,3 : 0,5.

Pescoço com 1 + 1 manchas laterais avermelhadas.

Protórax prêto excetuadas as manchas de colorido vermelho indicadas no pronoto e no ápice do escutelo. Pronoto com lóbulo anterior tendo cêrca de 1/3 do comprimento total, granuloso, prêto, com 1 + 1 tubérculos avermelhados no centro e os bordos laterais salientes, também de côr vermelha, interrompidos ao nível do meio e com pequena elevação ao nível da face posterior dos tubérculos discais. Lóbulo posterior do pronoto rugoso-granuloso, prêto, possuindo 1 + 1 carenas longitudinais divergentes que nascem atrás dos tubérculos discais no lóbulo anterior e se prolongam até o bordo posterior do pronoto; neste lóbulo há 2 + 2 manchas vermelhas, 1 + 1 manchas triangulares e situadas sôbre as carenas longitudinais e 1 + 1 laterais sôbre os ângulos póstero-laterais e no espaço entre o bordo lateral e a carena correspondente. Essas manchas são bem nítidas, grandes, como na figura. Escutelo triangular, prêto, rugoso, com 1 + 1 tubérculos mamiliformes no centro do seu bordo anterior e o ápice longo, levemente voltado para cima e de colorido vermelho na metade apical. Esterno e pleuras sem detalhes importantes.

Patas delgadas, relativamente longas, semelhantes, revestidas de pilosidade curta, de colorido prêto uniforme. Fêmures sem espinhos na face inferior. Tíbias sem fosseta esponjosa.

Hemi-élitros cobrindo todo o abdômen, de colorido geral pardo-claro, que se torna castanho escuro na base do cório e do clavo e sôbre algumas nervuras do cório e no ápice dêste, como também no centro da membrana sôbre a maior parte da área das duas células (fig. 3).

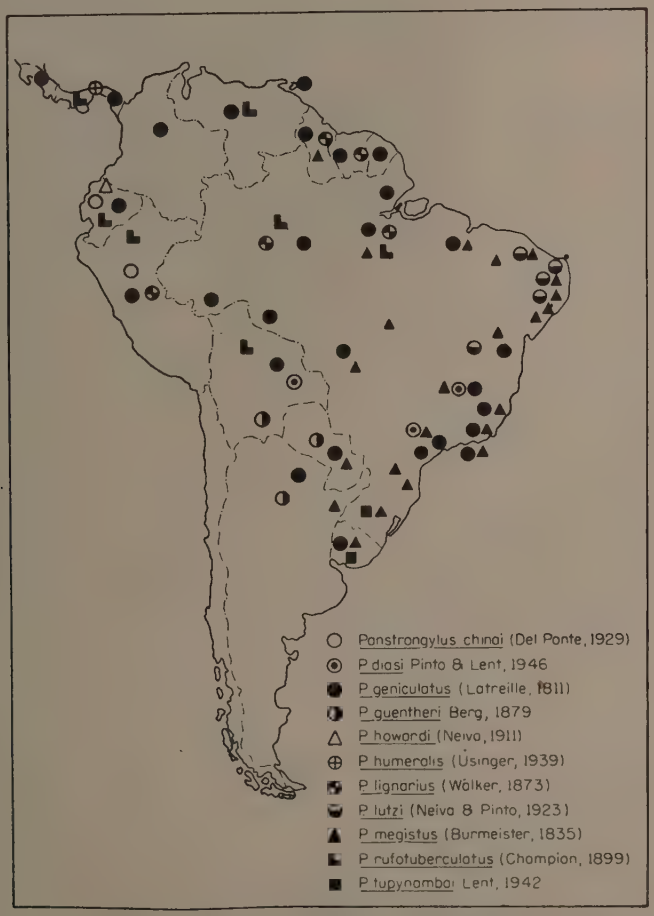


Fig. 4 — Distribuição geográfica das espécies do gênero *Panstrongylus* Berg, 1879.

Material examinado — Macho holótipo mencionado, devolvido ao Museu Zoológico de Berlim; macho, Ecuador, Montecristi, hacienda "Los Cerros", Prov. Manabi, 1959, Luis A. León leg., capturado em habitação humana, depositado no Instituto Oswaldo Cruz, Coleção Hemiptera N.º 1457.

CHAVE PRÁTICA E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DAS ESPÉCIES DO GÊNERO "PANSTRONGYLUS" BERG, 1879

Neste gênero, que é exclusivamente neotrópico, consideramos 11 espécies válidas, que se distribuem conforme indicado na fig. 4. Nos últimos anos alguns trabalhos têm sido publicados (Galvão, 1957; Forattini, 1960) com informações incompletas a respeito da distribuição das espécies, motivo que nos leva a discriminá-las, publicando uma chave prática (que não exclui as descrições completas de cada espécie) e a distribuição geográfica até agora conhecida.

1. 2.º artículo do rostro de comprimento menor ou igual ao do 1.º ..... *tupynambai* Lent

   Brasil (Rio Grande do Sul) e Uruguai

—. 2.º artículo do rostro de comprimento sempre maior do que o do 1.º ..... 2.

2. 1.º artículo antenal ultrapassando nìtidamente o ápice da cabeça. Olhos relativamente pequenos, bem afastados da face dorsal da cabeça quando vistos de perfil ... 3.

—. 1.º artículo antenal não ultrapassando nìtidamente, ou apenas ultrapassando, o ápice da cabeça. Olhos grandes, quase atingindo a face dorsal da cabeça quando vistos de perfil ..... 5.

3. Pronoto com lóbulo anterior provido de tubérculos discais e laterais ..... *lutzi* (Neiva & Pinto)

   Brasil (Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Bahia)

—. Pronoto com lóbulo anterior sem tubérculos discais e laterais, apenas constituido de 1 + 1 bossas mais ou menos granulosas ..... 4.

4. Ângulos anteriores do pronoto curtos, apenas elevados .. *diasi* Pinto & Lent

   Bolívia e Brasil (Minas Gerais, S. Paulo)

—. Ângulos anteriores do pronoto muito salientes ..... *guentheri* Berg

   Argentina, Bolívia e Paraguai

5. Processo apical do escutelo alongado, reto ..... 6.

—. Processo apical do escutelo curto, enrugado na base .. 8.

6. Abdômen de face ventral amarela e com manchas pretas dispostas em séries longitudinais. Fêmures com anel apical amarelo ou amarelo-alaranjado ..... *geniculatus* (Latreille)

   Argentina, Bolívia, Brasil (Amazonas, Pará, Maranhão, Bahia, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Guanabara, São Paulo, Paraná, Minas Gerais, Mato Grosso, Amapá, Acre, Rondônia), Colômbia, Costa Rica, Ecuador, Guianas francesa, holandesa e inglesa, Panamá, Paraguai, Perú, Trinidad, Uruguai e Venezuela

—. Abdômen de face ventral de colorido uniforme, sem manchas dispostas em série longitudinal. Fêmures com outro aspecto ..... 7.

7. Espécie de colorido uniformemente prêto; lóbulo posterior do pronoto apenas manchado de vermelho nos ângulos e bordo posteriores; conexivo dorsal com pequena mancha vermelha no ângulo póstero-lateral de cada segmento ..... *chinai* (Del Ponte)

Ecuador e Perú

—. Espécie de colorido castanho e manchas alaranjadas; lóbulo posterior do pronoto com 2 + 2 manchas extensas de côr laranja; conexivo dorsal com mancha clara nos 2/3 posteriores de cada segmento ..... *howardi* (Neiva)

Ecuador

8. Conexivo com mancha central escura isolada em cada segmento. Corpo com revestimento piloso dourado, muito nítido na face dorsal ..... *rujotuberculatus* (Champion)

Bolívia, Brasil (Amazonas, Pará), Ecuador, Panamá, Perú e Venezuela

—. Conexivo com manchas escuras anteriormente situadas em cada segmento, alternando com a mancha clara correspondente. Tegumento aparentemente glabro ..... 9.

9. Espécie preta com manchas vermelhas. Ângulos anteriores do pronoto pronunciados, agudos, roliços. Lóbulo posterior do pronoto com 2 + 2 manchas vermelhas grandes ..... *megistus* (Burmeister)

Argentina, Brasil (Pará, Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Bahia, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Guanabara, S. Paulo, Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul Minas Gerais, Mato Grosso, Goiás), Guiana inglesa, Paraguai e Uruguai

—. Espécies castanhas com manchas amarelas. Ângulos anteriores do pronoto agudos, lamelados .... 10.

10. Escutelo com faixa amarela longitudinal mediana ..... *lignarius* (Walker)

Brasil (Amazonas, Pará), Guiana holandesa, Guiana inglesa e Perú

—. Escutelo com faixa preta longitudinal mediana ..... *humeralis* (Usinger)

Panamá

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DEL PONTE, E., 1921, Contribución al estudio del Gen. Triatoma Lap. — Segunda parte. *Rev. Inst. Bacteriol. B. Aires,* 3 (1):133-196, láms. 8-15, figs. 29-60 + 7 figs.

DEL PONTE, E., 1930, Catálogo descriptivo de los géneros *Triatoma* Lap., *Rhodnius* Stal y *Eratyrus* Stal. *Rev. Inst. Bacteriol. B. Aires,* 5 (8):855-937, figs. 1-25, pls. 41-53.

Forattini, O. P., 1960, Notícias sôbre o *Panstrongylus geniculatus* (Latreille, 1811). *Rev. Brasil. Ent.*, 9:177-180, fig. 1.

Galvão, A. B., 1957, Chave ilustrada para adultos das espécies brasileiras do gênero *Panstrongylus* Berg, 1879 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Rev. Brasil. Malariol. D. Trop.*, 8 (3):421-432, figs. 1-7 (dat. 7-1956; publ. 9-1957).

Hussey, R. F., 1922, A bibliographical notice on the Reduviid genus *Triatoma* (Hemiptera). *Psyche*, 29 (3):109-123.

Lent, H., 1951, Triatominae das Regiões Oriental, Australiana, Etiópica e Paleártica, com descrição de uma nova espécie (Hemiptera, Reduviidae). *Rev. Brasil. Biol.*, 11 (4):425-429, figs. 1-3.

Lent, H., 1953, Nova espécie de *Triatoma* da Região Oriental (Hemiptera, Reduviidae). *Rev. Brasil. Biol.*, 13 (4):315-319, figs. 1-4.

Lent, H. & Pifano, F., 1940, Sobre a identidade dos generos *Panstrongylus* Berg, 1879 e *Mestor* Kirkaldy, 1904. Redescrição de *P. rufotuberculatus* encontrado, na Venezuela, naturalmente infestado pelo *Schizotrypanum cruzi*. *Rev. Ent.*, Rio de Janeiro, 11 (3):629-639, figs. 1-2.

Neiva, A., 1911, Zwei neue Afrikanische Arten des Genus Triatoma (Oder Conorhinus) Lap. (Beitrag zur Kenntnis der blutsaugenden Hemipteren). *Proc. ent. Soc. Wash.*, 13 (4):239-240.

Neiva, A., 1914, *Revisão do genero Triatoma Lap.*, These Fac. Med. Rio de Janeiro, 80 p., Tip. Jornal do Commercio.

Neiva, A. & Lent, H., 1936, Notas e commentarios sobre triatomídeos. Lista de especies e sua distribuição geographica. *Rev. Ent.*, Rio de Janeiro, 6 (2):153-190.

Neiva, A. & Lent, H., 1941, Sinopse dos triatomídeos. *Rev. Ent.*, Rio de Janeiro, 12 (½): 61-92, figs. 1-28.

Pinto, C., 1925, *Ensaio monographico dos Reduvideos hematophagos ou barbeiros*. These Fac. Med. Rio de Janeiro, 118 p., 66 figs., Empr. Gráf. Ed. Paulo Pongetti, Rio de Janeiro.

Pinto, C., 1931, Valor do rostro e antenas na caracterização dos generos de Triatomíneos. Hemiptera. Reduvidioidea. *Bol. Biol.*, 19:45-136, 71 figs.

Rev. Brasil. Biol., 20 (2) : 171-182
Setembro, 1960 — Rio de Janeiro, Gb.

RADIAÇÕES E TAXA DE MUTAÇÃO NO HOMEM[1]

ADEMAR FREIRE-MAIA
Laboratório de Genética Humana, Faculdade de Filosofia, Curitiba, Paraná

O estudo da taxa de mutação humana é bem complexo. Basta que se diga, por exemplo, ser o fenômeno da mutação bastante raro e que, portanto, milhares de gens que cada um de nós possui atravessaram gerações e gerações inalterados. O estudo de um fenômeno raríssimo se constitui sempre em um problema. Além do mais, existem vícios de análise ("bias"), que poderão levar a uma super-estimativa da taxa de mutação. Dentre tais vícios, podemos citar os seguintes: 1) existem gens mutantes que nem sempre manifestam seus efeitos (penetrância incompleta), podendo ser confundidos, portanto, com seus alelos normais, em alguns casos; 2) algumas anomalias consideradas como sendo hereditárias podem, às vêzes, ser condicionadas também por fatôres ambientais (fenocópias); 3) sendo algumas anomalias condicionadas por mutações que ocorram em gens diferentes, como parece ocorrer com a hemofilia, a taxa de mutação calculada para um gen na realidade se refere a mais de um; 4) a análise do valor adaptativo dos indivíduos afetados por anomalia condicionada por gen recessivo, levando em consideração seus irmãos normais (como habitualmente se faz), poderá levar a êrro, caso o gen se manifeste favoràvelmente (heterose) ou desvantajosamente nos irmãos heterozigotos. Além do mais, por ser extremamente difícil, às vêzes mesmo impossível, o estudo da taxa de mutação de gens relativamente estáveis, há uma tendência a se estudarem apenas os gens que apresentam altas taxas de mutação. Todos êsses fatôres nos levariam a uma super-estimativa da taxa total de mutações.

Embora existam alguns vícios na direção oposta, isto é, que tenderiam a nos mostrar uma taxa de mutação menor que a real (como o fato de os indivíduos afetados, sendo em geral mais fracos, poderem morrer em estado

---

[1] Recebido para publicação a 12 de abril de 1960.

Trabalho realizado graças a auxílios concedidos pelo Conselho de Pesquisas da Universidade do Paraná, Conselho Nacional de Pesquisas e Fundação Rockefeller e baseado em dois seminários realizados no Laboratório de Genética Humana da Universidade do Paraná.

embrionário e não serem detectados), parece que o êrro introduzido por êsses vícios é insignificante e sem importância prática. Assim sendo, as taxas de mutação calculadas devem ser consideradas, em geral, como sendo o limite máximo.

Além de todos os vícios citados, deve-se ter em mente ainda as variações que podem ocorrer nos valores obtidos para taxas de mutação, quando se tomam amostras com número pequeno de indivíduos mutantes. Assim sendo, os cálculos de taxa de mutação sòmente devem ser feitos quando já se possui um número relativamente grande de dados. Um exemplo de como podem ser obtidas estimativas diferentes quando se fazem cálculos com número reduzido de dados foi apresentado por NACHTSHEIM (1955) que, em colaboração com PÄTAU, analisou a taxa de mutação da anomalia de Pelger (anomalia dos núcleos dos leucócitos) tendo encontrado um valor igual a 1/10.000 (1×10^{-4}); em 1946, e posteriormente (1955), com maior número de dados, obteve um valor próximo de 0.3/10.000 (3×10^{-5}). Sendo assim, todos os cálculos sôbre taxas de mutação devem ser aceitos como uma primeira aproximação, sujeita a variações que poderão ser enormes. Apesar de tôdas as dificuldades, no entanto, a taxa de mutação espontânea no homem ainda é, dentre as calculadas para os demais vertebrados, a mais bem estudada.

EFEITOS GENÉTICOS DAS RADIAÇÕES

Principalmente depois das explosões atômicas de Hiroshima e Nagasaki, durante a última grande guerra, as atenções dos geneticistas se voltaram para os estudos a respeito dos efeitos genéticos das radiações. A precipitação radioativa (*fall-out*), resultante das experiências atômicas, já aumentou o nível de radioatividade em todo o mundo, inclusive no Brasil. Se os testes nucleares continuassem na mesma intensidade dos últimos anos (excluindo-se, naturalmente, o atual período de relativa trégua), calcula-se que cada indivíduo médio da população receberia nas gônadas, num período de 30 anos, como resultante das radiações atômicas, cêrca de 0.1 r (limites: 0.02-0.50 r). Sabendo-se que a radioatividade natural média a que estamos expostos talvez seja de 4 r (dose gônada; período de 30 anos) e sabendo-se que é aproximadamente a mesma ou até mesmo maior a dose equivalente resultante dos exames e tratamentos médicos, pode-se constatar que a radioatividade proveniente das explosões atômicas é "mínima" (tôdas as estimativas citadas aqui foram feitas para os Estados Unidos; v. "The biological effects of atomic radiation"). Embora "mínima", quando comparada com outras fontes de radiação, os efeitos que poderão ser produzidos pelas radiações atômicas não são desprezíveis, conforme demonstraram cálculos feitos por CROW, 1957 (v. PAULING, 1958), por exemplo. Êsse geneticista americano calculou que a dose-gônada de 0.1 r, se recebida por tôda a população do mundo, num período de 30 anos, poderia levar ao

aparecimento, no futuro, de 80.000 crianças com defeitos físicos e mentais graves, 300.000 natimortos e mortes infantis, e 700.000 mortes embriônicas e neonatais. Dêsses acontecimentos, é possível que 8.000, 20.000 e 40.000, respectivamente, ocorram já na primeira geração. Excelente revisão sôbre os efeitos genéticos das radiações foi publicada em português, recentemente, por CUNHA, 1959 (v. também N. FREIRE-MAIA, 1958).

Por aí se pode ver o alto interêsse nas pesquisas sôbre os efeitos genéticos das radiações, quer sejam elas provenientes do "background", dos consultórios médicos, das explosões atômicas, etc. É evidente que as anomalias que aparecerem no futuro, resultantes da irradiação da população atual, serão devidas aos efeitos genéticos das radiações. Tais efeitos genéticos são as *mutações*, que, como se sabe desde os fundamentais trabalhos de MULLER, em 1927, têm sua freqüência aumentada pelas radiações. Mas, quanto de efeito genético produzirá uma determinada dose de radiação? Eis uma pergunta, cuja resposta envolve o conhecimento de uma série de questões: 1) Taxa de mutação espontânea por gen. 2) Taxa de mutação induzida por r por gen. 3) Número de gens da espécie humana. 4) Taxa de mutação espontânea por gameto. 5) Taxa de mutação induzida por r por gameto. Nenhum dêsses dados é conhecido com segurança para a espécie humana.

TAXA DE MUTAÇÃO ESPONTÂNEA

Existem dois métodos básicos para o cálculo da taxa de mutação espontânea de um gen (*direto* e *indireto*), sendo o primeiro usado especialmente para gens dominantes com penetrância total, isto é, que sempre se manifestam nos heterozigotos.

1) *Gens dominantes*. Nestes casos, cada indivíduo afetado deve ter, pelo menos, um pai afetado. Não ocorrendo isso, terá ocorrido mutação. A taxa de mutação por gen será igual à freqüência de indivíduos afetados filhos de pais normais, dividida por 2, pois a mutação poderia ter ocorrido no gen que estava no espermatozóide ou no óvulo. A taxa de mutação pelo método direto pode, pois, ser calculada pela seguinte fórmula:

$$u = \frac{r}{2}$$

em que u é a taxa de mutação do gen, por geração, e r é a freqüência de afetados filhos de pais normais. MØRCH, 1941 (v. SPUHLER, 1956), por exemplo, fêz uma extensiva análise a respeito da ocorrência de casos de acondroplasia ou condrodistrofia (anomalia condicionada por gen dominante) na Dinamarca. Constatou 94.075 nascimentos, sendo 10 de acondroplásicos. Dêsses 10, 8 eram casos esporádicos, isto é, filhos de pais normais. A freqüência de afetados devido a mutação recente é, pois, de 8/94.075 (cêrca de 1/12.000). Aplican-

do-se a fórmula acima, obtém-se a seguinte taxa de mutação do gen da acondroplasia:

$$u = \frac{r}{2} = \frac{1}{2} \times \frac{8}{94.075} = 4.25 \times 10^{-5},$$

isto é, 4.25 mutações em 100.000 gametos.

Um método indireto para cálculo da taxa de mutação para gens dominantes foi desenvolvido por HALDANE (1935) e, independentemente, por GUNTHER & PENROSE (1935) (v. STERN, 1949). Baseia-se na suposição de que exista equilíbrio entre as taxas de mutação, injetando novos mutantes na população, e os fatôres seletivos, eliminando os gens deletérios. O baixo valor adaptativo dos indivíduos afetados (reduzindo sua viabilidade e fertilidade) tende a eliminar da população o gen mutante, em poucas ou muitas gerações, pouco importa para o nosso caso. Se não ocorresse equilíbrio entre mutação e seleção, então a freqüência dos mutantes nas gerações anteriores teria sido muito maior que na atual. Não havendo evidências de que isto tenha ocorrido, pode-se admitir a existência do equilíbrio postulado. Suponhamos que, numa certa geração, haja numa população de N indivíduos uma freqüência x de indivíduos afetados, porém heterozigotos (a freqüência dos indivíduos afetados homozigotos, sendo baixíssima, pode ser desprezada). O número de pais afetados será, portanto, Nx; sendo heterozigotos, terão Nx alelos normais e Nx anormais. O número de pais normais será $(N\text{-}Nx)$; sendo homozigotos, possuirão, portanto, $2(N\text{-}Nx)$ alelos normais. O número total de alelos normais, na geração parental, será, pois:

$$Nx + 2\,(N\text{-}Nx) = Nx + 2N\text{-}2Nx = 2N\text{-}Nx = N(2\text{-}x).$$

Chamando de u a taxa de mutação do gen normal para o alelo anormal dominante, então o número de alelos anormais "novos" será de $Nu(2\text{-}x)$ ou $2Nu$ (caso desprezemos o valor x, por ser muito baixo).

Se o valor adaptativo dos afetados é f, então a taxa de eliminação dos alelos anormais será $(1\text{-}f)$. Como o número de afetados na população parental é Nx, o número de alelos anormais que não passarão para a geração seguinte será $(1\text{-}f)Nx$.

Aceitando-se como real o equilíbrio anteriormente postulado entre o número de alelos anormais devidos a mutação recente e o número de alelos anormais que foram eliminados, teremos que

$$2Nu = (1\text{-}f)Nx \quad \text{e} \quad u = \tfrac{1}{2}(1\text{-}f)x$$

Os mesmos dados obtidos por MØRCH (citado acima) podem ser usados como exemplo da aplicação dessa fórmula, em que a melhor estimativa de x ($10/94.075 = 0.0001063$) foi obtida num hospital dinamarquês. Sabendo-se que 108 acondroplásicos tiveram 27 filhos (50% normais e 50% anormais, aproximadamente) e que seus 457 irmãos normais tiveram 582 (todos nor-

mais), verifica-se que a freqüência de alelos anormais que passaram para a geração seguinte foi de ½ (27/108) = 0.125, enquanto a de alelos normais, provenientes de pais normais, foi de 582/457 = 1.273. Assim sendo, $f = 0.125/1.273 = 0.098$, e

$$u = 1/2(1-f)x = 1/2(1-0.098)0.0001063 = 4.8 \times 10^{-5}$$

isto é, 4.8 mutações em 100 mil gametos, o que concorda aproximadamente com a taxa calculada pelo método direto, dando uma média de cêrca de 4.5×10^{-5}. SLATIS (1955a), no entanto, fêz algumas críticas sôbre as taxas de mutação calculadas para o gen da acondroplasia, achando-as muito altas, devido a alguns vícios de análise. Na época em que MØRCH publicou sua pesquisa (1941), havia na Dinamarca 86 anões condrodistróficos (dos quais 79 eram filhos de pais normais). Sendo de 3.800.000 pessoas a população da Dinamarca, na época, a freqüência de indivíduos afetados devido a mutação recente será, portanto, de 79/3.800.000. Admitindo que a seleção contra os indivíduos afetados se manifeste por uma baixa na fertilidade, e não na viabilidade, SLATIS concluiu que a freqüência de indivíduos afetados por mutação recente na população será igual a duas vêzes a taxa de mutação e que, portanto, a taxa de mutação do gen da acondroplasia é de 79/7.600.000, ou aproximadamente 1/100.000 (1×10^{-5}).

A fórmula do método indireto acima citada poderá ser simplificada, desde que a freqüência q do gen dominante seja muito baixa e que, portanto, a freqüência p de seu alelo normal seja próxima de 1. Segundo o teorema de Hardy-Weinberg, a freqüência de heterozigotos numa população em equilíbrio é igual a $2pq$ (admitindo-se $p = 1$, essa freqüência será $2q$). Temos, portanto,

$$u = \frac{1}{2}(1-f)x = \frac{1}{2}(1-f)2q = (1-f)q$$

2) *Gens ligados ao sexo*. O estudo da taxa de mutação dos gens localizados no cromosoma X também pode ser feito com relativa segurança. Possuindo os homens apenas um cromosoma X, enquanto as mulheres possuem dois, qualquer mutação ocorrida num gen ligado ao sexo só se manifestará, em média, uma vez em três gerações (sendo a mutação rara, é desprezível a probabilidade de aparecimento de mulher afetada, isto é, homozigota). Sendo assim, 1/3 dos gens mutantes se encontra nos homens. Os métodos para estudo da taxa de mutação para gens ligados ao sexo podem ser, em linhas gerais, os mesmos métodos indiretos usados para gens dominantes autosômicos. A seguinte fórmula, em que u e f têm os mesmos valores anteriores, e x' é a freqüência de homens afetados, pode ser usada :

$$u = \frac{1}{3}(1-f)x'$$

Dados obtidos por WALTON (1955) a respeito da distrofia muscular tipo-Duchenne mostraram uma freqüência $x' = 18/138.403 = 0.00013$ de indi-

víduos afetados, cuja fertilidade (f) foi igual a zero. Assim sendo, a taxa de mutação foi calculada como sendo

$$u = \frac{1}{3}(0.00013) = 4.3 \times 10^{-5},$$

isto é, 4.3 mutações por 100.000 gametos.

Em recente trabalho Morton & Chung (1959) calcularam a taxa de mutação dêsse gen e encontraram um valor igual a 89×10^{-6}.

3) *Gens recessivos.* O problema aqui oferece uma série de dificuldades, que sòmente poderão ser contornadas caso façamos algumas concessões (como a suposição de completa recessividade do gen), o que não dará muita segurança aos resultados. Sabe-se, por exemplo, que mesmo um gen altamente deletério poderá apresentar, no estado heterozigótico, uma certa vantagem. Ainda que ligeira, tal vantagem poderá compensar o efeito deletério do gen em homozigose, uma vez que os heterozigotos ocorrem na população em freqüência muito maior. Por outro lado, um gen que manifestasse uma certa desvantagem em heterozigose teria uma taxa de mutação muito maior do que se fôsse neutro.

Admitindo-se que também para os gens recessivos haja equilíbrio entre o número de mutações introduzidas e o número de alelos eliminados da população, e sabendo-se que, para cada afetado que não deixa descendência, dois alelos anormais se perdem, então se verifica que a taxa de mutação para gens recessivos deve ser duas vêzes maior que a dos gens dominantes:

$$u = (1\text{-}f)x$$

Sendo q a freqüência gênica e F, o coeficiente médio de "inbreeding" de uma população,

$$x = Fq + (1\text{-}F)q^2,$$

sendo

$$q = c(1\text{-}k)/16k\text{-}15c\text{-}ck,$$

em que c é a freqüência de casamentos entre primos em primeiro grau na população geral e k é a freqüência dêsses casamentos entre os pais de afetados.

As fórmulas acima foram aplicadas numa análise *preliminar* da aquiropodia (anomalia condicionada por gen recessivo; v. A. Freire-Maia e cols., 1958), mais com finalidade de demonstrar um método do que apresentar resultados. Assim sendo, os dados e estimativas aqui apresentados são provisó-

rios e sujeitos a modificações futuras: $f = 0.14$; $F = 0.0024$; $c = 0.03$; $k = 0.53$. A aplicação das fórmulas levou aos seguintes resultados:

$$q = 0.03\,(1\text{-}0.53)/16\,(0.53) - 15\,(0.03) - 0.03\,(0.53) = 0.18\%$$
$$x = 0.0024 \times 0.0018 + (1 - 0.0024)0.0018^2 = 0.00000432 +$$
$$+ (0.9976\ 0.00000323) = 0.00000755$$
$$u = (1 - 0.14)0.00000755 = 0.0000065 = 6.5 \times 10^{-6},$$

isto é, 6.5 mutações por 1 milhão de gametos. Essa é a primeira taxa de mutação calculada no Brasil.

Taxa média de mutação por gen. A taxa de mutação varia de gen para gen. Alguns podem apresentar taxa de mutação muitíssimo alta (esquizofrenia: 5.000? x 10^{-6}), enquanto outros apresentam muitíssimo baixa ("garra de lagosta": 0.1 x 10^{-6}); muitos gens apresentam taxa de mutação tão alta quanto 3 x 10^{-5}, mas outros apresentam taxa tão baixa quanto 10 x 10^{-7} (v. revisão em SPUHLER, 1956, por exemplo). Uma estimativa da taxa média de mutação, por gen, por geração, portanto, terá que levar em consideração vários fatôres. Sendo assim, qualquer taxa média de mutação que se considere deve ser aceita, não como valor real, mas apenas como uma aproximação. Tendo em vista que apenas dois gens ligados ao sexo (hemofilia e distrofia muscular) apresentam taxas de mutação razoàvelmente seguras, e tendo em vista ainda a insegurança existente nas taxas calculadas para gens recessivos, a melhor estimativa da taxa média de mutação por gen talvez seja a baseada na média dos gens dominantes (15 x 10^{-6}, segundo CROW, 1956; 5 x 10^{-6} segundo PENROSE, 1956). Tendo em vista ainda que os gens geralmente estudados pelo geneticista são justamente aquêles que apresentam as maiores taxas de mutação, é possível que a taxa média de mutação por gen seja menor que as estimadas acima, podendo até ser da ordem de 1 x 10^{-6}.

O número de locos. Admitindo que o homem, devido à sua alta complexidade, deva ter mais gens que a drosófila, MULLER (1950) calculou que o número haplóide de gens na espécie humana deva ser superior a 5.000 (mínimo calculado para a drosófila). Admitindo que a drosófila tenha 10.000 gens (número haplóide) e que o homem tenha um número duas vêzes maior, MULLER calculou, então, cêrca de 20.000 locos para a espécie humana. EVANS (v. SLATIS, 1955b), no entanto, admitiu 100.000 locos, sendo essa a mais alta estimativa até hoje feita. Baseado em dados obtidos na própria espécie humana, SPUHLER (1948) calculou cêrca de 20.000–30.000 locos, enquanto FROTA-PESSOA (1960), corrigindo o método de SPUHLER, chegou a um número pouco superior a 5.000, o qual considerou como uma sub-estimativa. Parece seguro, pois, admitir que o número de locos humanos seja superior a 5.000, porém não seja maior que 100.000. Essa estimativa de EVANS parece ser o limite máximo.

Taxa média de mutação por gameto. Se admitirmos 10.000 como o número haplóide de gens da espécie humana e 1 x 10^{-6} como a taxa média de mutação espontânea por gen, teríamos então que a taxa média de mutação espontânea por gameto seria de cêrca de 0.01; se admitirmos 10 x 10^{-6} (média entre as estimativas de Crow e Penrose) como a taxa média de mutação por gen, teríamos 0.10 como a taxa média de mutação por gameto. Se admitirmos um número talvez exageradamente grande de locos (100.000) com taxa média de mutação por gen igual a 10 x 10^{-6}, então a taxa média de mutação por gameto seria igual a 1 (cada gameto teria, em média, uma mutação nova).

Admitindo uma taxa média de mutação por loco tão alta quanto 2 x 10^{-5} e um número de locos tão baixo quanto 5.000, Muller (1950) estimou que em cada grupo de 10 gametos humanos, em média, 1 apresenta uma nova mutação (taxa mínima); supondo 20.000 locos humanos, estimou uma taxa de mutação quatro vêzes maior (0.4). Neel & Schull (1954) fizeram estimativas baseadas num número de locos igual a 20.000—40.000 e taxa de mutação por loco igual a 3 x 10^{-5}, tendo obtido valores intermediários entre 0.6 e 1.2. Tôdas essas estimativas acima nos permitem dizer, com razoável segurança, que a taxa média de mutação espontânea por gameto deva ser maior que 0.01 (talvez mesmo maior que 0.1), porém menor que 1.2. Aceitando-se um valor intermediário (0.50) pode-se ver que, em média, cada um de nós possui uma mutação ausente em nossos pais.

TAXA DE MUTAÇÃO INDUZIDA POR RADIAÇÕES[2]

Deve-se introduzir aqui o conceito de dose duplicadora (*dd*), que corresponde à dose de radiação necessária para duplicar a taxa espontânea de mutação. Admitindo-se que a dose de radiação devida a causas naturais que, num período de 30 anos, atinje as gônadas de um indivíduo médio da população seja de cêrca de 4 r (v. "The Biological effects of atomic radiation"), a *dd* seria tão baixa quanto 4 r, caso tôdas as mutações ditas espontâneas fôssem devidas à radioatividade natural. Sabe-se que isso não é verdade (pesquisas de Ehrenberg e cols., 1957, por exemplo, mostraram que a elevada temperatura das gônadas, devida ao uso de roupas, é responsável por riscos genéticos de 100 a 1000 vêzes maiores que os estimados para diferentes fontes de radiação). Logo, a *dd* deve ser maior que 4 r, que pode ser tomado como o limite médio mínimo. Dito em outras palavras, a dose duplicadora não pode ser menor que 4 r.

Sendo impossível se realizar experiências na espécie humana, afim de se determinar a sensibilidade dos gens do homem à radiação, torna-se imperioso

[2] O estudo da taxa de mutação induzida por outros agentes mutagênicos tem sido realizado em escala muitíssimo menor que o dos efeitos genéticos das radiações, não existindo pràticamente nenhum dado a respeito da espécie humana.

lançar mão de dados experimentais obtidos em outros animais, especialmente a drosófila e o camundongo. Embora a extrapolação seja um método legítimo em ciência, ela deve ser aceita com tôdas as reservas que a transposição de dados de uma espécie para outra diferente deve merecer. Sempre que possível, deve-se lançar mão dos dados do camundongo (mamífero como o homem), em vez de se usar os dados obtidos na drosófila ou outros invertebrados.

Admitindo que seja igual a 10^{-5} a taxa média de mutação espontânea por loco, por geração (valor baseado nas taxas de mutação dos gens da hemofilia e epiloia), e aceitando como se aplicando à média dos gens humanos a taxa de mutação 0.03×10^{-6} induzida por *r*, por gen ligado ao sexo, em drosófila, Evans (1949; v. Slatis, 1955b) obteve o seguinte valor para a *dd* no homem: $10^{-5}/0.03 \times 10^{-6} = 1/0.03 \times 10^{-1} = 10/0.03 = 300\ r$.

Russell (1954), no entanto, analisando milhares de camundongos, calculou uma taxa de mutação induzida por roentgen, por loco, igual a $(25.0 \pm 3.7) \times 10^{-8}$, tendo verificado, portanto, que a sensibilidade dêles à radiação era cêrca de 10 vêzes maior que a encontrada para a drosófila. Aceitando-se essa taxa como correspondendo à sensibilidade dos gens humanos, e aceitando-se que a taxa de mutação espontânea na espécie humana seja igual à calculada para a distrofia muscular tipo-Duchenne (cêrca de 4.3×10^{-5} como vimos), temos que $dd = 4.3 \times 10^{-5}/0.025 \times 10^{-5}$, isto é, cêrca de 170 r. Admitindo-se ainda a estimativa de Russell para a taxa de mutação induzida, e considerando-se 10×10^{-6} como sendo a taxa de mutação espontânea (como já fizéramos anteriormente), então chegaríamos a um valor para a dose duplicadora igual a 40 r (que parece estar muito mais perto do valor real que as estimativas anteriores). Num campo em que pouco se conhece com segurança, e onde se é obrigado a lançar mão de dados obtidos em outros organismos para suplementar nossa ignorância a respeito dos fatos na espécie humana, não é de se estranhar que se cheguem a resultados bastante diversos. Ainda estamos longe de chegarmos a uma conclusão definitiva a respeito do problema, ou pelo menos de chegarmos a uma aproximação segura do valor real da dose duplicadora na espécie humana. Isto, no entanto, não é de desanimar, pois o progresso da genética nos está levando a um melhor conhecimento das taxas de mutação espontânea de vários gens humanos, bem como nos possibilitando uma melhor avaliação da sensibilidade dos gens do homem às radiações. Os valores calculados para a dose duplicadora na espécie humana, embora aparentemente contraditórios, representam uma ordem de grandeza, que pode ser aceita como razoável. Assim, por exemplo, sabemos que a dose duplicadora deve ser maior que 5 r, porém muito menor que 300 r (menor ainda que 150 r), devendo estar o valor mais provável entre 30 r e 80 r (v. "The Biological effects of atomic radiation"). Com as reservas necessárias e como uma primeira aproximação do problema, podemos aceitar que a dose duplicadora na espécie humana seja da ordem de 50 r.

Segundo o comitê científico da Academia Nacional de Ciências e Conselho Nacional de Pesquisas dos Estados Unidos para estudo dos efeitos biológicos das radiações, o indivíduo médio da população, além da radiação de fundo ("background"), não deve receber, em 30 anos, nas gônadas, dose de radiação superior a 10 r (dose média recebida nos Estados Unidos devido a finalidades médicas). Não que o comitê julgue inócua qualquer dose inferior a 10 r, mas apenas porque julga que, dadas as necessidades médicas, o indivíduo se vê obrigado a submeter-se às radiações usadas com finalidade de diagnóstico e terapia. O limite de 10 r é, pois, razoável, mas não inofensivo.

Admitimos, agora, que cada indivíduo médio no Brasil receba, nas gônadas, num período de 30 anos, uma dose extra (além da natural) equivalente a 10 r. Admitamos ainda que a sensibilidade humana às radiações seja aproximadamente igual à do camundongo (0.25×10^{-6}). Isso significa que 1 r produzirá 0.25×10^{-6} mutação por loco, por geração. Como a dose que estamos considerando é de 10 r, essa dose produzirá $10\,(0.25 \times 10^{-6}) = 2.5 \times 10^{-6}$ mutações por loco, por geração. Admitindo-se que a população atual brasileira seja constituída de 60 milhões de indivíduos e admitindo-se que a próxima geração também tenha igual número, vê-se que 120 milhões de gens por loco específico passarão para a próxima geração, dos quais serão novas mutações $120^6 \times 2.5 \times 10^{-6} = 300$. Admitindo-se que o número haplóide na espécie humana seja de 10.000 locos (Frota-Pessoa, 1960), então o número total de novas mutações deletérias que passarão para a próxima geração será da ordem de 3 milhões! Se admitirmos 20.000 locos no homem, então o número dessas mutações será de cêrca de 6 milhões!

Relativamente ao efeito populacional dessa dose de 10 r, é certo que se pode esperar um aumento da freqüência de mortes e anomalias devidos a fatôres hereditários. Êsse aumento, no entanto, se dispersará através das gerações. Admitamos que cêrca de 4% de todos os nascimentos no Brasil apresentem ou venham a apresentar defeitos genéticos vários, dos quais a metade (2%) fôsse de origem genética simples, como foi constatado nos Estados Unidos. Admitindo-se que a próxima geração será constituída também de 60 milhões de pessoas (como já admitimos acima), verifica-se que a geração atual dará origem a cêrca de 1.2 milhão de pessoas (2% do total) com defeitos genéticos de base simples, oriundos de gens deletérios já existentes na população ou que sofreram mutação espontânea. A dose de 10 r (aqui considerada como 1/5 da dose duplicadora) elevaria êsse número, gradualmente, para 1.44 milhão de pessoas defectivas, sendo possível que, já na primeira geração, a dose de 10 r fôsse responsável pelo nascimento de 24.000 pessoas com defeitos genéticos (10% do total devido a mutações induzidas).

Êsse trabalho deve ter mostrado quão complexo é o problema do cálculo das taxas humanas de mutação e quantas incertezas temos ainda a respeito dos efeitos genéticos das radiações no homem. Deve ter-nos convencido ainda

da necessidade premente de novas e mais amplas pesquisas num campo de importância vital para a sorte da humanidade. Enquanto não tivermos um conhecimento melhor sôbre os efeitos biológicos das radiações, nunca será demais ter em mente que qualquer dose de radiação, por menor e mais inócua que possa parecer, deve ser evitada, sempre que possível.

RESUMO

Uma revisão é feita a respeito do cálculo das taxas de mutação espontânea e induzida na espécie humana, tendo-se dado especial atenção a respeito da avaliação dos riscos genéticos que poderão advir para as populações submetidas a um nível de radioatividade acima do "normal". São analisadas as dificuldades com que tem que enfrentar o biologista que intente realizar essa avaliação, bem como são apresentados métodos para cálculo das taxas de mutação espontânea para gens dominantes, ligados ao sexo e recessivos.

A taxa de mutação do gen da aquiropodia foi calculada em cêrca de 6.5 por milhão de gametos, sendo êsse o primeiro cálculo feito no Brasil a respeito da taxa de mutação de um gen.

Estimou-se a taxa média de mutação espontânea por gen como sendo de 10×10^{-6}; o número de locos humanos foi considerado como superior a 5.000 e menor que 100.000; e a taxa de média de mutação espontânea por gameto foi aceita como sendo da ordem de 0.5 (em média, cada um de nós teria, portanto, uma nova mutação deletéria, ausente em nossos pais).

Aceitou-se a dose de 50 r como sendo capaz de dobrar a taxa de mutação espontânea da espécie humana (dose duplicadora) e fizeram-se cálculos sôbre o impacto que uma dose de 10 r, se recebida por tôda a população atual do Brasil, poderá representar para a freqüência de defeitos genéticos nas gerações futuras. Estimou-se que tal impacto poderá representar o nascimento, nas futuras gerações, de quase meio milhão de pessoas com tais defeitos. Chamou-se atenção, finalmente, para o fato de que qualquer dose de radiação, sempre que possível, deve ser evitada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Crow, J. F., 1956, The estimation of spontaneous and radiation-induced mutation rates in man. *Eugenics Quart.*, 3 (4):201-208.

Cunha, A. B., 1959, Nós e as radiações. *Anhembi*, :256-268.

Ehrenberg, L., Ehrenstein, G. & Hedgran, A., 1957, Gonad temperature and spontaneous mutation-rate in man. *Nature*, 180 (4599):1433-1434.

Freire-Maia, A., Freire-Maia, N. & Quelce-Salgado, A., 1958, Genetic aspects of achiropody. Proc. *X Intern. Congr. Genet.*, II:88-89.

Freire-Maia, N., 1958, Efeitos genéticos das radiações no homem. *Rev. Brasil. Radiol.*, 1 (2):126-132.

Frota-Pessoa, O., 1960, On the number of gene loci in man *(a ser publ.)*.

MORTON, N. E. & CHUNG, C. S., 1959, Formal genetics of muscular distrophy. *Amer. J. Hum. Genet.*, 11 (4):360-379.

MULLER, H. J., 1950, Our load of mutations *Amer. J. Hum. Genet.*, 2 (2):111-176.

NACHTSHEIM, H., 1955, Frequency and distribution of pathologic genes in human populations. *Eugenics Quart.*, 2 (1):9-17.

NEEL, J. V. & SCHULL, W. J., 1954, *Human Heredity*. 361 pp., Univ. Chicago Press.

PAULING, L., 1958, Genetic and somatic effects of Carbon-14. *Science*, 128 (3333):1183-1186.

PENROSE, L. S., 1956, The spontaneous mutation rate in man. Em *The hazards to man of nuclear and allied radiations*, Medical Res. Council, London.

PENROSE, L. S., 1957, Mutation in man. *Proc. I Intern. Congr. Hum. Genet.*, 169-182.

RUSSELL, W. L., 1954, Genetic effects of radiation in mammals. Em *Radiation Biology*, I (2):825-859. McGraw-Hill Book Co. Inc., N.Y.

SLATIS, H. M., 1955a, Comments on the rate of mutation to chondrodystrophy in man. *Amer. J. Hum. Genet.*, 7 (1):76-79.

SLATIS, H. M., 1955b, Current status of information on the induction of mutations by irradiation. *Science*, 121 (3154):817-821.

SPUHLER, J. N., 1948, On the number of genes in man. *Science*, 108 (2802):279-280.

SPUHLER, J. N., 1956, Estimation of mutation rates in man. *Clinical Orthopaedics*, 8:34-43.

STERN, C., 1949, *Principles of Human Genetics*, 617 pp. (reimpresso em 1959). W. H. Freeman Co., San Francisco.

THE BIOLOGICAL EFFECTS OF ATOMIC RADIATION, 1956, Nat. Acad. Sci., Nat. Res. Counc. USA (summary reports, 108 pp.).

WALTON, J. N., 1955, On the inheritance of muscular dystrophy. *Ann. Hum. Genet.* 20 (1):1-38.

Rev. Brasil. Biol., 20 (2) : 183-190
Setembro, 1960 — Rio de Janeiro, Gb.

PROVEN AND POTENTIAL VECTORS OF THE TREMATODE "SCHISTOSOMA MANSONI" IN SOUTH AMERICA [1]

FREDERICO SIMÕES BARBOSA
Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Recife, Pernambuco

From the taxonomic point of view it is agreed by the majority of the malacologists that the snail vectors of *Schistosoma mansoni* belong to a single genus, leaving merely the problem of the choice of a generic name to be attributed to this very important group of invertebrates. Without doubt one the genus *Taphius* is not distinguished generically from *Biomphalaria, Tropicorbis* and *Australorbis* as demonstrated by HUBENDICK (1955). However, this author justified his preference for the generic name *Biomphalaria,* admitting, although that its acceptance will depend on the decision of the International Commission of Zoological Nomenclature. PARAENSE & DESLANDES (1957) transfered the Brazilian species to the genus *Taphius* which species until now had been included by them in the genus *Australorbis*. In this work they make no reference to the African genus *Biomphalaria*. According to BARBOSA (1956, 1958), the most reasonable solution would be to keep the African planorbids in the genus *Biomphalaria* and the American ones in the genera *Tropicorbis* and *Australorbis*. Moreover, it is not clear whether other genera could be claimed by priority. Among them the denomination *Planorbina* Haldeman, 1842 stands as probably the oldest generic name to be applied to the group of snails in question. In order to solve this problem an application was made to the International Commission on Zoological Nomenclature signed by Drs. F. S. BARBOSA, B. HUBENDICK, E. A. MALEK and C. A. WRIGHT, in which they ask for a final decision. Thus, while a decision is not given, there are no other alternative but the use of the well known generic names *Biomphalaria, Tropicorbis* and *Australorbis*.

The majority of the Brazilian workers agree that the number of species of planorbids encountered in this country is very small (PINTO & DESLANDES, 1953; PARAENSE & DESLANDES, 1956b; REY, 1956). Five species are considered

[1] Received for publication April 28, 1960.

valid by the authors cited above. Of these 4 were studied in this laboratory regarding the susceptibility to the Brazilian strain of *S. mansoni*.

The strain of *Australorbis glabratus* (Say) from Recife as well as from Belo Horizonte were easily infected with *S. mansoni* and eliminated large numbers of cercariae (Barbosa, Coelho & Dobbin, 1954; Coelho, 1957). *Tropicorbis centimetralis* (Lutz) was considered by Coelho & Barbosa (1956) as a poor vector from a biological view point. A majority of miracidia and sporocysts is destroyed by phagocytic action and the few snails which become infected eliminate cercariae in small numbers as compared to *A. glabratus*. The duration of infection in *T. centimetralis* is shorter than in *A. glabratus*.

Australorbis nigricans (Spix), inhabiting the South and Central parts of the country, was also studied in this laboratory by Coelho (1957). This worker considered that *A. nigricans* from Rio de Janeiro is only slightly susceptible to infection with *S. mansoni* from Belo Horizonte. More recently Coelho (unpublished data) demonstrated that certain bicarenated populations of the snail *A. nigricans* from the State of Rio de Janeiro, are completely resistant to infection with this trematode.

Tropicorbis janeirensis (Clessin) is not susceptible to *S. mansoni*. This small snail, widely distributed in the northeast of Brazil as well as other regions of the country, has never been incriminated as a vector. Unpublished data obtained in this laboratory (Barbosa and Barbosa), showed that the snail populations of the counties of Cabo and Recife (State of Pernambuco) are entirely resistant to *S. mansoni*. Not only several attempts to infect this snail gave negative results, but it was also demonstrated that the miracidia which penetrated the snail were entirely destroyed.

Finally, *A. incertus* (Lutz) the last of the above cited Brazilian species, appears to be not susceptible to *S. mansoni*. Paraense & Deslandes (1956a) never found this species (= *A. inflexus*) naturally infected and attempts to infect it produced negative results.

In other highly endemic American areas, such as Venezuela, Porto Rico, Dutch Guiana and the West Indies, *A. glabratus* has always been the snail incriminated as the vector. However, nothing is known about the possibility of other species in these countries acting as vectors.

It is worthwhile to mention that in other American countries where the disease is not found, there exist potential hosts for *S. mansoni*. In the United States Cram *et alii* (1945) demonstrated that *Tropicorbis havanensis* found in the South, is susceptible to the trematode. *Tropicorbis chilensis*, a species occurring in Chile, may be considered a potential host of *S. mansoni* (Barbosa & Barbosa, 1958a). *T. philippianus* from Ecuador can also be infected with a Brazilian strain of that trematode (Barbosa, Barbosa & Rodriguez, 1958).

SUSCEPTIBILITY TO INFECTION

The susceptibility of the planorbids to infection with *S. mansoni* varies not only with environmental factors, but depends also on conditions related to the snail and to the parasite.

The various factors which intervened in the infection of snails with *S. mansoni* are studied below.

The susceptibility of the planorbids to infection with *S. mansoni* depends also on conditions related to the snail and to the parasite. FILES & CRAM (1949) and FILES (1951) working with *A. glabratus* from various American sources, *Biomphalaria pfeifferi* from Liberia and *B. boissyi* from Egypt, performed cross infections with various African and American strains of *S. mansoni*. They concluded that there exist inter and intra-species physiological differences among the vectors as well as physiological differences among various strains of *S. mansoni*.

The relative natural immunity of the snail to the same strain of *S. mansoni* is also an important factor and will be analyzed below together with the study of intramolluscal larval stages.

NEWTON (1953) demonstrated that two strains of *A. glabr*atus from different origins, one from Puerto Rico and the other from Brazil showed different susceptibility when tested with the same Puerto Rican strain of *S. mansoni*. While *A. glabratus* from Puerto Rico was highly susceptible, the Brazilian snail was totally resistant. A cross made between the two strains of snails revealed that the susceptibility to infection by *S. mansoni* is controlled genetically and appears to depend on various genetic factors.

Inter specific and intraspecific crossings are important factors to be considered here. BARBOSA, COELHO & CARNEIRO (1956) demonstrated that *Biomphalaria boissyi* and *Australorbis glabratus,* two important vectors in Africa and America, may be crossed and produce fertile offspring. Again BARBOSA, CARNEIRO & BARBOSA (1956) verified that *Tropicorbis chilensis* a potential vector in Chile, can be easily crossed with *Tropicorbis centimetralis* from Pernambuco, Brazil. *Tropicorbis philippianus* from Ecuador is not reproductively isolated from the Brazilian species *T. centimetralis* and *Australorbis nigricans*. It is suspected that in Niteroi (State of Rio de Janeiro) natural hybrids exist between *Australorbis glabratus* and *A. nigricans* (BARBOSA & COELHO, 1957) and very recently natural hybrids of *glabratus* x *centimetralis* were found in one area around Recife (BARBOSA *et alii,* unpublished data). Variations in the susceptibility within the same species of snail to *S. mansoni* are well known. According to FILES (1951) *A. glabratus* shows a variable susceptibility to strains of *S. mansoni* from different sources. Very recently in this laboratory, BARBOSA & BARRETO (unpublished data) verified that *A. glabratus* from Salvador, Bahia, is not only resistant to foreign strains

of *S. mansoni* as shown by Files (1951), but is slightly susceptible to the Brazilian strains of the same trematode.

Although one encounters in the literature certain date showing that the snails are not generally simultaneously infected by many trematodes, the problem of acquired immunity by the snails has not been seriously investigated. Barbosa & Coelho (1956) attempted to clarify the problem of immunity acquired by *A. glabratus* against the same local strain of *S. mansoni*. These authors cited above verified that snails which had been cured of an infection could be reinfected and that snails infected with a single sex could be reinfected with miracidia of the opposite sex. The tissue reactions around the miracidia which penetrate the infected snails (those infected with a single sex) was more intense than was found in uninfected ones. These results suggest that the infected snails show a partial resistance to reinfection.

INTRAMOLLUSCAN LARVAL STAGES

In the tissues of the snail, the miracidia and the sporocysts may or may not undergo certain reactions by the host. Barbosa *et alii* (1954, 1956) in several papers, attempted to study the host-parasite relationship between the local strain of *S. mansoni* and the two known vectors of schistosomiasis in Pernambuco, Brazil, *A. glabratus* and *T. centimetralis*. The miracidia penetrate in both of those species of planorbids. However, the sporocysts develop without reaction in *A. glabratus* while in *T. centimetralis* the majority is involved in a strong cellular reaction and the sporocysts are destroyed by phagocytosis. These reactions are similar to those described by Brooks (1953) in *T. havanensis* infected with *S. mansoni*, and also observed by Newton (1952) in *A. glabratus* from Brazil which is resistant to the Puerto Rico strain of *S. mansoni*.

The study of the cellular reactions around the larval stages within the snail is of great interest in the determination of the susceptibility of the snail to the trematodes. And this, certainly, is a more reliable way to determine whether or not a snail is suitable for the development of *S. mansoni*.

Coelho (1957) made detailed studies on the cellular reactions which follow infection of *A. nigricans* from the state of Rio de Janeiro with a strain of *S. mansoni* from Belo Horizonte. The cells which involved the miracidia are amebocytes showing great phagocytic activity and are essentially polymorphous. These cells which are spherical under normal conditions, elongate and arrange themselves concentrically around the miracidia. Soon after desintegration of the miracidia, the amebocytes reassume their spherical shape and as such act by phagocytic activity to remove the remains of the parasites.

The infection of the snail terminates generally by the death of the host. However, spontaneous healing of infected planorbids has been observed in a single specimen of *Biomphalaria pfeifferi* by Gordon *et alii* (1934). Barbosa, Coelho & Dobbin (1954) verified that out of 148 infected *A. glabratus*, 35

(28.6%) were cured naturally, demonstrating that this phenomenon is very frequent under laboratory conditions. The same phenomenon has been observed by LAGRANGE & SCHEECQMANS (1959b) and was recently verified by STIREWALT (1954). The mechanism of healing is unknown. The recuperation of the tissues of the digestive gland is extremely rapid and the snails which have been cured act like non infected ones.

BARBOSA, COELHO & DOBBIN (1954) estimated that 39 days is the average life time of *A. glabratus* infected with *S. mansoni*. With *T. centimetralis*, according to the same authors, the average was 5.2 days.

In this laboratory, COELHO (1954) studied the action of the larval stages of *S. mansoni* on the reproduction of *A. glabratus*. Although castration of the infected snails never occurred, the number of eggs laid and their viability was much reduced during the infection. Histological sections of the ovotestis revealed some of the sexual cells always to be in activity. When the snails are cured, they require their primitive reproductive activity.

The parasitic specificity varies a great deal among the schistosomes. In the post-cercarial phase, *S. mansoni* may live in a large number of mammals belonging to different orders, from the marsupials to the primates. In their larval stages however, the specificity is very narrow. In view of the results of inter-specific crossings it has been verified that *S. mansoni* develops in planorbid species closely related from the genetic point of view.

SHEDDING OF CERCARIAE

The elimination of cercariae of *S. mansoni* from *Australorbis glabratus* has been studied by various authors (FAUST & HOFFMANN, 1934; GIOVANNOLA, 1936; KUNTZ, 1946; SCHREIBER & SCHUBERT, 1949; TRAVASSOS, 1953). Faced with certain discrepancies in the cycle of the elimination of cercariae, this subject was restudied by BARBOSA, COELHO & DOBBIN (1954). According to these authors, there exists a very pronounced time schedule in the cycle of the elimination of cercariae. The major part of the cercariae is eliminated between 11 a.m. and 5 p.m. At night practically no elimination of cercariae occurs. The average number of cercariae eliminated daily by one snail was 4,598. A single snail was found to have eliminated in one day 17,600 cercariae, as a maximum. Some specimens lived more than 5 months and eliminated during this period more than ½ million cercariae. These numbers are much higher than those obtained by other workers who studied the same phenomenon.

In other cases the infection was of very short duration, the snail eliminating a very small number of cercariae and then dying or becoming cured of the infection.

ECOLOGY RELATED TO TRANSMISSION

In Northeastern Brazil breeding places are subject to great fluctuations in the water level. Many of them dry up completely during the summer

months and during this period the snails are stranded on dry land. Most of the snails when out of water are destroyed by the heat of the sun or are eaten by predatory animals. It was well demonstrated that the snails are unable to enforce themselves into the mud to escape distressing conditions, but they may be found accidentally buried or imprisioned in superficial layers of the mud or covered by vegetation and debris. Protected snails are better fitted to enter in aestivation and survive prolonged periods of desiccation.

The habitats are disturbed during the wet season by heavy rains which flood the areas carrying the snails down stream. While the water recedes the reproductive capacity of the snails makes the repopulation of these habitats very rapid. Higher infection rates are observed in the snails just after the rainy season.

Studies begun in this laboratory in 1952 (Barbosa & Dobbin, 1952; Olivier & Barbosa, 1955a and 1955b) revealed that in certain areas in the Northeast of Brazil which are subject to an annual dry-season, the snail vectors of *S. mansoni* show extraordinary resistance to desiccation. Field and laboratory work revealed different aspects of the problem, including what happens to the infected snail which is subjected to desiccation. Barbosa & Coelho (1953) demonstrated initially that under laboratory conditions, *A. glabratus,* in the phase of elimination of cercariae may survive desiccation but becomes cured of the infection. The infected snails die more rapidly than the uninfected ones during desiccation and the degeneration of the sporocysts and cercariae occur around 18 days after the snails is taken out of water. Following this, Olivier, Barbosa & Coelho (1954) demonstrated that a large proportion of *A. glabratus* infected and maintained out of water, died within the first 15 to 20 days or before 30 days from the beginning of the experiment. Those which survived after this period had the same average life span as a group of uninfected snails which served as control.

In 1955 Barbosa & Coelho began anew on the interesting problem of the behavior of the larval stages of *S. mansoni* in *A. glabratus* subjected to desiccation. These authors verified that of 402 infected snails left out of water, 122 survived free of infection. The phenomenon seems to be generalized as not a single snail which survived was infected. On the other hand, in this same paper, these workers verified what happens to the trematode when the snail enters into desiccation while the parasite is in its first phases of infection. Groups of *A. glabratus* were infected in the laboratory and removed from the water after several periods of time. The snails were maintained out of water for varying periods and then returned to the aquaria. In this situation, the trematode stops its development which is resumed as soon as the snail returns to water. In the primary sporocyst stage the trematode *S. mansoni* has the capacity to remain in dormancy for at least 90 days. Shortly thereafter, Barbosa & Barbosa (1958) found *A. glabratus* desiccated in the field with

sporocysts in dormancy raising the important epidemiological question of this phenomenon which heretofore has not been observed in trematodes.

REFERENCES

BARBOSA, F. S., 1956, The taxonomic position of the snail vectors of *Schistosoma mansoni*. *Publ. Av. C. P. Aggeu Magalhães,* 5:49-52.

BARBOSA, F. S., 1958, The snail hosts of *Schistosoma mansoni* and transmission of schistosomiasis in Brazil. *Proc. XVth Intern. Congr. Zool., London,* pp. 691-693.

BARBOSA, F. S. & BARBOSA, I., 1958a, *Tropicorbis chilensis,* from Santiago, Chile, a potential intermediate host of *Schistosoma mansoni*. *Bol. Chil. Parasitol.,* 13:7-9.

BARBOSA, F. S. & BARBOSA, I., 1958b, Dormancy during the larval stages of the trematode *Schistosoma mansoni* in snails estivating on the soil of dry natural habits. *Ecology,* 39:763-764.

BARBOSA, F. S., BARBOSA, I. & RODRIGUEZ, J. D., 1958, *Tropicorbis philippianus* (Dunker) a potential intermediate host of *Schistosoma mansoni* in Ecuador. *J. Parasitol.,* 44:622.

BARBOSA, F. S., CARNEIRO, E. & BARBOSA, I., 1956, On the anatomy of *Tropicorbis chilensis* (Anton) and its relationships to the Brazilian planorbidae (Mollusca, Pulmonata). *Publ. Av. C. P. Aggeu Magalhães,* 5 (6):53-60.

BARBOSA, F. S. & COELHO, M. V., 1953, Ação da dessecação sôbre as fases larvárias intra-caramujo de *Schistosoma mansoni* em *Australorbis glabratus*. *Publ. Av. Inst. Aggeu Magalhães,* 2 (11):159-162.

BARBOSA, F. S. & COELHO, M. V., 1954, Qualidades de vetor dos hospedeiros de *S. mansoni* no Nordeste do Brasil. I. Suscetibilidade de *A. glabratus* e *T. centimetralis* à infestação por *S. mansoni*. *Publ. Av. Inst. Aggeu Magalhães,* 3 (4):55-62.

BARBOSA, F. S. & COELHO, M. V., 1955, Comportamento das formas larvárias de *Schistosoma mansoni* em *Australorbis glabratus* (Mollusca Planorbidae) sujeitos à estivação. *Publ. Av. Inst. Aggeu Magalhães,* 4 (3):51-60.

BARBOSA, F. S. & COELHO, M. V., 1956, Pesquisa de imunidade adquirida homóloga em *Australorbis glabratus* nas infestações por *Schistosoma mansoni*. *Rev. Brasil. Malariol.,* 8:49-56.

BARBOSA, F. S. & COELHO, M. V., 1957, Notes on the anatomy of two Brazilian planorbid snails. *Rev. Biol.,* Lisboa, 1:113-115.

BARBOSA, F. S., COELHO, M. V. & CARNEIRO, E., 1956, Cross breeding of *Australorbis glabratus* and *Biomphalaria boissyi*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.,* 50 (3):296-297.

BARBOSA, F. S., COELHO, M. V. & DOBBIN, J. E., 1954, Qualidades de vetor dos hospedeiros de *S. mansoni* no Nordeste do Brasil. II. Duração da infestação e eliminação de cercárias em *A. glabratus*. *Publ. Av. Inst. Aggeu Magalhães,* 3 (7):79-92.

BARBOSA, F. S. & DOBBIN, J. E., 1952, Effects on the dry season on *Australorbis glabratus* (Mollusca Planorbidae). *Publ. Av. Inst. Aggeu Magalhães,* 1 (2):145-148.

BROOKS, C. P., 1953, A comparative study of *Schistosoma mansoni* in *Tropicorbis havanensis* and *Australorbis glabratus*. *J. Parasitol.,* 39:159-163.

COELHO, M. V., 1954, Ação das formas larvárias de *Schistosoma mansoni* sôbre a reprodução de *Australorbis glabratus*. *Publ. Av. Inst. Aggeu Magalhães,* 3:39-54.

COELHO, M. V., 1957, Aspectos do desenvolvimento das formas larvais de *Schistosoma mansoni* em *Australorbis nigricans*. *Rev. Brasil. Biol.,* 17:325-327.

COELHO, M. V. & BARBOSA, F. S., 1956, Qualidades de vetor dos hospedeiros de *Schistosoma mansoni* no Nordeste do Brasil. III. Duração da infestação e eliminação de cercárias em *Tropicorbis centimetralis*. *Publ. Av. Inst. Aggeu Magalhães,* 5 (3):21-29.

CRAM, E. B., JONES, M. F. & WRIGHT, W. H., 1945, A potential intermediate host of *Schistosoma mansoni*. *Science*, 23:302.

FAUST, E. C. & HOFFMAN, W. A., 1934, Studies on Schistosomiasis mansoni in Puerto Rico. III. Biological studies. 1. The extramammalian phases of the life cycle. *Puerto Rico J. Publ. Health Trop. Med.*, 10:1-47.

FILES, V. S., 1951, A study of the vector parasite relationships in *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 41:264-269.

FILES, V. S. & CRAM, E. B., 1949, A study on the comparative susceptibility of snail vectors to strains of *Schistosoma mansoni*. *J. Parasitol.*, 35:555-560.

GIOVANNOLA, A., 1936, Some observations on the emission of cercariae of *S. mansoni* from *A. glabratus*. *Proc. Helminth. Soc. Washington*, 3:60-61.

GORDON, R. M., DAVEY, T. H. & PEASTON, H., 1934, The transmission of human bilharziasis in Sierra Leone, with an account of the life cycle of the schistosomes concerned, *S. mansoni* and *S. haematobium*. *Ann. Trop. Med.*, 28:323-418.

HUBENDICK, B., 1955, Phylogeny in the Planorbidae. *Trans. Zool. Soc. London*, 28 (6):453-542.

KUNTZ, R. E., 1946, Effect of light and temperature on shedding of *S. mansoni* cercariae *Nav. Med. Res. Inst. Bethesda*, 7:16 pp.

LAGRANGE, E. & SCHEECQMANS, G., 1950, Sur l'épidémiologie de la bilharziose experimentale à *S. mansoni*. *C. R. Soc. Biol., Paris*, 144:1703.

NEWTON, W. L., 1952, The comparative tissue reaction of two strains of *Australorbis glabratus* to infection with *Schistosoma mansoni*. *J. Parasitol.*, 38:362-366.

NEWTON, W. L., 1953, The inheritance of susceptibility of infection with *Schistosoma mansoni* in *Australorbis glabratus*. *Exp. Parasitol.*, 2:242-257.

OLIVIER, L. & BARBOSA, F. S., 1955a, Seasonal studies on *Australorbis glabratus* Say from two localities in eastern Pernambuco, Brazil. *Publ. Av. Inst. Aggeu Magalhães*, 4:79-103.

OLIVIER, L. & BARBOSA, F. S., 1955b, Seasonal studies on *Tropicorbis centimetralis* in Northeastern Brazil. *Publ. Av. Inst. Aggeu Magalhães*, 4:105-115.

OLIVIER, L., BARBOSA, F. S. & COELHO, M. V., 1954, The influence of infection with *Schistosoma mansoni* on survival of *Australorbis glabratus*. *Publ. Av. Inst. Aggeu Magalhães*, 3:63-71.

PARAENSE, W. L. & DESLANDES, N., 1956a, *Australorbis inflexus* sp. n. from Brazil. *Rev. Brasil. Biol.*, 16:149-158.

PARAENSE, W. L. & DESLANDES, N., 1956b, Diagnostic characters of the Brazilian species of *Australorbis*. *Rev. Brasil. Biol.*, 16:281-286.

PARAENSE, W. L. & DESLANDES, N., 1957, A redescription of *Taphius andecolus* (Orbigny, 1835). *Rev. Brasil. Biol.*, 17:235-243.

PINTO, D. B. & DESLANDES, N., 1953, Contribuição ao estudo da sistemática de planorbídeos brasileiros. *Rev. Serv. Esp. S. Publ.*, 6:135-167.

REY, L., 1956, *Contribuição para o conhecimento da morfologia, biologia e ecologia dos planorbídeos brasileiros transmissores da esquistossomose*. Serviço Nacional de Educação Sanitária, 217 p., Rio de Janeiro.

SCHREIBER, F. G. & SCHUBERT, M., 1949, Experimental infection of the snail *Australorbis glabratus* with the trematoda *Schistosoma mansoni* and the production of cercariae. *J. Parasitol.*, 35:77-200.

STIREWALT, M. A., 1954, Effect of snail maintenance temperatures on development of *Schistosoma mansoni*. *Exp. Parasitol.*, 3:504-516.

TRAVASSOS, L., 1953, Algumas observações sôbre a bionomia do *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907, feitas na cidade do Salvador, Bahia. *An. Acad. Brasil. Cien.*, 25:157-165.

Rev. Brasil. Biol., 20 (2) : 191-203
Setembro, 1960 — Rio de Janeiro, Gb.

DENSIDADE RELATIVA DAS PRINCIPAIS FASES DO DESENVOLVIMENTO DE TRIATOMINEOS DOMICILIARES, EM PERNAMBUCO [1]

DURVAL T. DE LUCENA
Departamento Nacional de Endemias Rurais,
Laboratório Regional, Recife, Pernambuco

(Com 6 figuras no texto)

Emanuel Dias, cuja fidelidade ao estudo da Doença de Chagas e dos seus transmissores caracteriza a sua obra científica, foi, aparentemente, quem primeiro abordou o "estudo das variações mensais das diversas fases evolutivas de triatomíneos na natureza" tratando das espécies dominantes no município de Bambuí, em Minas Gerais, isto é, o *Panstrongylus megistus* e o *Triatoma infestans* (Dias, 1955).

Investigação análoga efetuamos em 1957, relacionada às 4 espécies mais numerosas dos triatomíneos ocorrentes no Nordeste, ao termos de relatar o amplo tema "Biologia do transmissor da Doença de Chagas" perante o "I Seminário Brasileiro sôbre Doença de Chagas", realizado na Paraíba, naquele ano. Só agora publicamos o que então anotamos, no que concerne à incidência das várias formas evolutivas dos triatomíneos em estado natural.

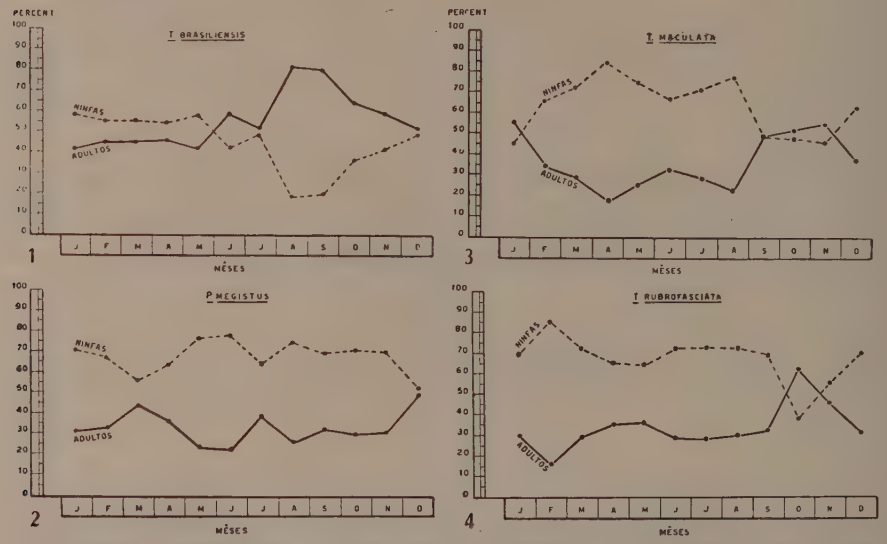
MATERIAL

Utilizamos aqui o material coletado durante o inquérito entomológico para estudo da endemia chagásica em Pernambuco (Lucena, 1957), assim como insetos coligidos posteriormente nos municípios de Pau d'Alho, Limoeiro, Glória do Goitá e Sertania.

Os dados meteorológicos foram extraídos do "Anuário Estatístico de Pernambuco", editado em 1955 pelo Departamento de Estatística do Estado de Pernambuco, reproduzindo curvas termométricas, quedas pluviométricas, umi-

[1] Recebido para publicação a 16 de março de 1960.

dade relativa do ar e evaporação total, de anos normais. As curvas estão representadas nas figs. 5 e 6.



Percentagens de variação mensal de adultos e ninfas de Triatomíneos em Pernambuco — Fig. 1: *Triatoma brasiliensis;* fig. 2: *Panstrongylus megistus;* fig. 3: *Triatoma maculata;* fig. 4: *Triatoma rubrofasciata.*

Distribuimos a soma mensal dos insetos capturados, segundo as espécies, em dois grupos: um dos adultos, outro de todos os estádios ninfais precedentes, sem distinguir as formas jovens das mais evoluidas. Consideramos as 4 espécies mais importantes: *Panstrongylus megistus, Triatoma brasiliensis, Triatoma maculata* e *Triatoma rubrofasciata,* tabelando os dados respectivos separadamente (Tabelas 1 a 4), que também vão representados em gráficos (figs. 1 a 4).

Freqüentemente citaremos o trabalho, já referido, de Dias, comparando os dados por êle obtidos com o *P. megistus,* em região fisiográfica completamente distinta do Nordeste.

RESULTADOS

1. Panstrongylus megistus

Na Tabela 1 dispomos, pelos meses do ano, 11.512 espécimes de *P. megistus,* dos quais 7.616 ninfas em todos os estádios e 3.896 adultos. Nas duas últimas colunas, referimos as percentagens relativas respectivas de adultos e de ninfas.

A percentagem de ninfas foi sempre, em todos os meses, maior que a de adultos, nunca menor de 51% até 78%, não se registrando, portanto, inversão na curva de distribuição dos dois grupos evolutivos estudados. Considerando-se a população total, tivemos 66,16% de ninfas e 33,84% de adultos.

Da análise da Tabela 1 e da observação da fig. 2, verifica-se, com efeito, que a variação mensal de ocorrência das formas jovens e adultas do *P. megistus,*

TABELA 1

Distribuição mensal e percentagem relativa de adultos e ninfas de Panstrongylus megistus, em Pernambuco

Meses	Adultos	Ninfas	Total	% adultos	% ninfas
Janeiro	678	1.536	2.214	30,62	69,38
Fevereiro	275	547	822	33,45	66,55
Março	532	684	1.216	43,75	56,25
Abril	435	760	1.195	36,40	63,60
Maio	244	810	1.054	23,15	76,85
Junho	107	487	594	21,97	78,03
Julho	295	782	1.077	37,72	62,28
Agôsto	109	306	415	26,27	73,73
Setembro	46	100	146	31,51	68,49
Outubro	231	550	781	29,58	70,42
Novembro	32	73	105	30,48	69,52
Dezembro	912	981	1.893	48,18	51,82
Total	3.896	7.616	11.512	33,84	66,16

em condições naturais, é pouco acentuada, com predominância de um dos estádios sôbre o outro durante todo o ano. Nota-se, todavia, ligeira ascensão na curva do período ninfal a partir de abril, mantendo-se alta até novembro quando sofre uma deflexão brusca, sem que jamais as duas linhas se cruzem. Aliás, êsse é o traço característico da curva de variação mensal do *P. megistus* em Pernambuco e, provavelmente, no Nordeste, contrastando com aquela figurada por Dias, no seu mencionado trabalho.

Os dados tabelados, como vimos, indicam a existência apenas de 1/3 de insetos adultos, seja no total seja na maioria dos meses do ano. Utilizando-se êsse fato visando esclarecer a duração da espécie na natureza e o número de gerações[2] produzidas, é possível admitir que há postura constante das fêmeas em estado natural, de molde a manter a população jovem predominante sempre. Os adultos, representados por 1/3 da população, desaparecem progressivamente: cumprido o determinismo biológico, envelhecem rápido e logo se extinguem. Mas a proliferação constante e a mortalidade por igual mantêm

[2] Empregamos o têrmo "geração" no mesmo sentido em que Dias o fêz, isto é, conjunto de indivíduos da mesma época, como, aliás, definem os léxicos.

a comunidade estavel nos níveis indicados. Essa constância resulta do aparecimento freqüente de novas gerações cuja periodicidade parece estar indicada na curva de freqüência (fig. 2) pelos meses de março, julho e dezembro, nos quais o número de adultos sendo maior retrata o fim de um ciclo e começo de outro, com a atividade sexual e conseqüente oviposição.

Se desejássemos caracterizar, como conclusão, o ciclo evolutivo do *P. megistus* na natureza, diríamos que as gerações se sucedem bastante regularmente, com atividade sexual acentuada em 3 meses distintos do ano, em conseqüência do que o número de ninfas é sempre maior do que o de adultos, na proporção de 2:1.

É curioso observar que Dias (op. cit.), baseado no estudo procedido em Bambuí, é de opinião que lá o *P. megistus* "parece apresentar apenas uma geração anual". Realmente é interessante como a mesma espécie se comporta de modo tão distinto, quase surpreendente, quando se contempla as curvas de freqüência representativas de sua evolução em Bambuí e em Pernambuco. Sem dúvida, influência de fatôres ecológicos.

2. Triatoma brasiliensis

As condições que presidem o desenvolvimento natural do *T. brasiliensis*, habitante da zona semi-árida do Estado, são bastante peculiares, como já tivemos oportunidade de esclarecer (Lucena, 1959). A isso se deve a evolução distinta da que se observa com o *P. megistus*.

Reunimos, para elaboração dêsse trabalho, dados referentes a 1.603 adultos e 1.691 ninfas, totalizando 3.294 insetos. A distribuição mensal dêles, sobremodo característica, é bastante uniforme nos primeiros meses do ano, com leve predomínio das formas jovens; depois, sùbitamente os adultos preponderam alteando a curva nos meses de agôsto a novembro (Tabela 2 e fig. 1).

Há, dêsse modo, duas fases bem distintas na distribuição mensal das ninfas e adultos do *T. brasiliensis* em estado natural: uma, de equilíbrio populacional, que vai de dezembro a julho; outra, de predomínio das formas adultas, que se estabelece bruscamente em agôsto perdurando até novembro (fig. 1).

Êsse predomínio, súbito, dos adultos, ao nosso ver, marca o término da evolução ninfal de uma população considerável que vinha se desenvolvendo, pouco a pouco, de molde a suplantar numèricamente, já em estado adulto, o restante das ninfas em evolução. A geração, como se houvesse se iniciado à mesma época, estanca: a população passa a constar quase só de adultos. Com essa pletora de imagens, há reprodução intensa, redução subseqüente progressiva, porém moderada, dos adultos destruídos ou envelhecidos, e elevação, com predomínio discreto relativo, das formas jovens, durante os 5 meses seguintes. Ora, para que haja êsse equilíbrio numérico entre as duas fases, é preciso que tenham se reduzido consideràvelmente as posturas e os desalaga-

TABELA 2

Distribuição mensal e percentagem relativa de adultos e ninfas de Triatoma brasiliensis, **em Pernambuco**

Meses	Adultos	Ninfas	Total	% adultos	% ninfas
Janeiro	173	245	418	41,39	58,61
Fevereiro	387	469	856	45,21	54,79
Março	41	50	91	45,05	54,95
Abril	395	472	867	45,56	54,44
Maio	92	129	221	41,63	58,37
Junho	7	5	12	58,33	41,67
Julho	37	34	71	52,11	47,89
Agôsto	9	2	11	81,82	18,18
Setembro	177	43	220	80,45	19,55
Outubro	14	8	22	63,64	36,36
Novembro	62	44	106	58,49	41,51
Dezembro	209	190	399	52,38	47,62
Total	1.603	1.691	3.294	48,66	51,34

mentos conseqüentes, de molde a que a população jovem se desenvolva, homogênea, crescente, em detrimento das formas adultas decadentes. Enfim, o desenvolvimento das ninfas resulta no final do ciclo, que se instala, brusco, em agôsto, com produção abundante de adultos.

Em suma, os dados referidos sugerem que o *T. brasiliensis,* em condições naturais, é uma espécie cujo ciclo biológico é demorado, de cêrca de um ano, interrompendo as posturas durante alguns meses, de forma a produzir apenas uma geração anual.

Distingue-se o *T. brasiliensis* dos outros triatomíneos aqui estudados por apresentar dominância acentuada das formas adultas durante mais da metade do ano, isto é, dois períodos evolutivos bem marcados.

3. Triatoma maculata

O total de exemplares de *T. maculata,* em que se baseiam nossas observações, é bem menor do que a quantidade obtida para estudo das espécies precedentes. É que as capturas foram efetuadas simultâneamente e o *T. maculata* é um hemíptero bem menos abundante que os outros dois. Dispomos de 614 insetos sendo 245 adultos e 369 ninfas em todos os estádios. (Tabela 3).

Examinando-se os dados tabelados, verifica-se que durante 7 meses, de fevereiro a agôsto, houve predomínio considerável das ninfas no domicílio; em setembro as duas populações se equivalem e a partir de então há superioridade numérica de adultos, se bem que não exagerada (Tabela 3). É o que se pode, também, observar na curva representada na fig. 3, em que, a princípio, as duas linhas mantêm-se consideràvelmente afastadas, encontram-se e cruzam-se sem se distanciarem demais.

TABELA 3

Distribuição mensal e percentagem relativa de adultos e ninfas de Triatoma maculata, **em Pernambuco**

Meses	Adultos	Ninfas	Total	% adultos	% ninfas
Janeiro	88	72	160	55,00	45,00
Fevereiro	34	66	100	34,00	66,00
Março	6	15	21	23,57	71,43
Abril	3	15	18	16,67	83,33
Maio	4	12	16	25,00	75,00
Junho	19	39	58	32,76	67,24
Julho	15	37	52	23,85	71,15
Agôsto	4	14	18	22,22	77,78
Setembro	13	13	26	50,00	50,00
Outubro	12	11	23	52,17	47,83
Novembro	6	5	11	54,54	45,46
Dezembro	41	70	111	36,94	63,06
Total	245	369	614	39,90	60,10

A interpretação dêsses dados nos parece sugerir, em primeiro lugar, uma eclosão súbita de imagens a partir de setembro, daí por diante o número de adultos ultrapassa o das ninfas e assim se mantém até janeiro (a irregularidade da curva nesse ponto deve ser reflexo da pequenez da amostra). Depois, a redução considerável que se observa no número de adultos, a partir de fevereiro, pode significar extinção progressiva daquela população envelhecida cujo ciclo vital, breve, se termina no período de um ano.

Se compararmos essa curva com a do *T. brasiliensis,* por exemplo, no espaço amplo que decorrem as linhas das duas fases, em *T. maculata* e na proximidade guardada pelas daquela espécie, poderemos ver, respectivamente, o

perfil distinto de duas comunidades entomológicas: em *T. maculata* uma fase é suplantada pela outra e as linhas da curva se repelem; em *T. brasiliensis* as duas populações quase se equivalem, e sobrevivem, equilibradas, até à época da última muda.

4. Triatoma rubrofasciata

Espécie litorânea e da zona da Mata, representa apenas 15,36% da população triatomínea dessas unidades fisiográficas unificadas (Lucena, 1957). Daí porque o número de exemplares em que se baseia o presente estudo fôsse pequeno: 237 adultos e 480 ninfas, totalizando 717 espécimes.

A evolução natural no domicílio do *T. rubrofasciata* afigura-se muito regular: predominância de formas jovens durante quase todo o ano, de janeiro a setembro, inversão da curva em outubro e restabelecimento rápido da supremacia ninfal, de sorte que já em dezembro o número de formas jovens é consideravel. Ver Tabela 4 e fig. 4.

TABELA 4

Distribuição mensal e percentagem relativa de adultos e ninfas de Triatoma rubrofasciata, **em Pernambuco**

Meses	Adultos	Ninfas	Total	% adultos	% ninfas
Janeiro	9	21	30	30,00	70,00
Fevereiro	15	83	98	15,31	84,69
Março	9	23	32	28,13	71,87
Abril	37	70	107	34,58	65,42
Maio	31	55	86	36,05	63,95
Junho	21	54	75	28,00	72,00
Julho	10	26	63	27,78	72,22
Agôsto	11	28	39	28,21	71,79
Setembro	21	47	68	30,89	69,11
Outubro	42	25	67	62,69	37,31
Novembro	20	24	44	45,45	54,55
Dezembro	11	24	35	31,43	68,57
Total	237	480	717	33,05	66,95

A interpretação dêsses dados é clara: a eclosão de adultos, de maneira repentina, no mês de outubro, passando os triatomíneos, nessa fase, a preponderar sôbre as ninfas. Depois, sobrevém a postura e já no mês seguinte as

ninfas retomam a supremacia para dominarem na população, em dezembro. A proporção de 2:1, de ninfas para adultos, é a constante na comunidade *rubrofasciata,* até mesmo mais elevada, em alguns meses.

Conseqüentemente, só parece haver uma geração anual da espécie, em estado natural. À atividade sexual segue-se o envelhecimento dos indivíduos, mortandade e equilíbrio populacional nos 9 meses do ano, expresso na relação de 1 adulto para 2 ninfas.

INFLUÊNCIA METEOROLÓGICA NA EVOLUÇÃO DOS TRIATOMÍNEOS DOMICILIARES

Não é fácil determinar a influência de fatôres meteorológicos sôbre a evolução dos triatomíneos domiciliares, sobretudo porque faltam dados daquela natureza obtidos no próprio domicílio e nas variadas regiões fisiográficas em que o país se divide. Por isso, lança-se mão dos dados gerais, pluviométricos, de umidade relativa e de temperatura do ar, entre outros, que servem de indicadores das condições relativas ecológicas. Na realidade, essa conduta se não é bastante rigorosa, ainda assim tem a vantagem de oferecer à análise dados fiéis, aos quais os seres, em geral, estão subordinados na Natureza.

Quanto a se reconhecer a sua importância na distribuição geral da fauna triatomínea, é assunto pacífico, e sôbre êle já tivemos oportunidade de nos referir em trabalho anterior (Lucena, 1959).

Além da opinião de Neiva, largamente citada, de que "no Brasil os adultos de tôdas as espécies começam a aparecer em setembro," no que se refere aos triatomíneos domiciliares em geral, cremos que só Dias (op. cit.) abordou o tema de maneira especial tratando da evolução do *T. infestans* e do *P. megistus,* em Bambuí. No mais, ao que nos consta, são referências ligeiras, citações ocasionais.

No que tange ao *P. megistus,* Dias chega à conclusão de que a sua evolução se processa demorada, as ninfas predominando no tempo frio e sêco enquanto que os adultos preponderam na época quente e úmida. Em Bambuí, a estação fria e sêca corresponde aos meses de abril a setembro, com temperatura mínima oscilante em tôrno de 15°C e escassas chuvas; o tempo quente e úmido, de outubro a março, é o das chuvas abundantes e temperatura mínima de quase 20°C. As máximas, nas duas quadras, variam nas proximidades de 28°C.

Entre nós, como vimos, não há predomínio alternado de uma das fases sôbre a outra, no ciclo evolutivo do *P. magistus,* durante o ano, de modo que não podemos co-relacionar, por contraste, os dois fenômenos, biológico e físico. Quando muito anotaríamos as duas elevações na freqüência de adultos, em dezembro e março, coincidentes com a época mais quente do ano, em qualquer das zonas fisiográficas do Estado. Ainda poderíamos acrescentar que a evolução das formas jovens, nascidas em dezembro, seria mais rápida, pois já em março há nova ascensão na freqüência de adultos. Enquanto isso, nos meses sucessi-

vos, a evolução passa a se completar aos 4 a 5 meses, respectivamente em julho e dezembro, transcorrendo na época menos quente e de mais chuva.

Ao contrário disso, o desenvolvimento biológico das outras 3 espécies estudadas é caracterizado pelo predomínio de formas adultas no verão, cujo número avulta a partir de agôsto.

O *T. brasiliensis*, o mais típico, mantém-se em equilíbrio populacional até julho; em agôsto o número de adultos passa a ser 2½ vêzes maior que o de ninfas do mês anterior, marcando o início de novo ciclo biológico.

Se quizermos descobrir alguma influência ecológica sôbre êsse esbôço do ciclo vital dêsse triatomíneo, devemos, antes, expôr as condições meteorológicas reinantes no seu habitáculo preferencial.

O sertão nordestino é a pátria do *T. brasiliensis*. Em Pernambuco, de onde provém o material em estudo, as condições ecológicas retratam-se pela queda pluviométrica escassa, secura excessiva do ar, temperatura elevada constante e evaporação intensa, conforme se pode ver dos gráficos representados nas figs. 5 e 6.

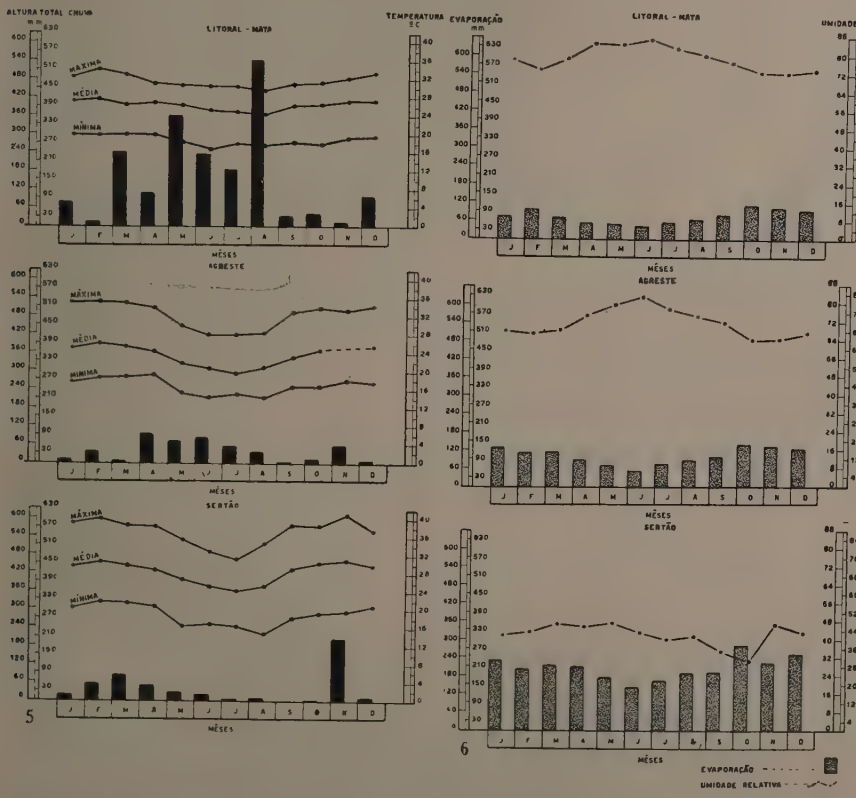


Fig. 5 — Temperatura do ar e chuva em Pernambuco. Fig. 6 — Umidade relativa e evaporação em Pernambuco.

Ali a temperatura média anual é de 28,3°C, com máximas de 40,9° e mínimas de 14,8°, respectivamente nos meses de novembro e agôsto. As precipitações pluviométricas, nos anos de inverno regular, vão a 481 mm anuais, podendo cair a menos de 300 mm nos anos secos. A umidade relativa, em compensação, é baixa, em média de 42,1%, oscilando entre 30 e 47% (Petrolina). Enquanto isso, a evaporação é excessiva totalizando 2.502 mm anuais (Petrolândia).

Apesar do clima quente e sêco durante todo o ano, ainda assim a elevação termométrica acentua-se a partir de agôsto, conseqüente à ausência de chuvas nos meses precedentes que, obedecendo ao regime de verão, começam a cair em outubro ou novembro. A essa elevação térmica corresponde maior atividade entomológica, quer do crescimento da população adulta, quer de natureza sexual, quer, decorrentemente, hematofágica com as suas conseqüências de ordem epidemiológica, resultantes do predomínio de adultos nessa época mais quente que marca o fim de um ciclo biológico e comêço de outro.

Se a aridez do clima sertanejo não prejudica a evolução geral do *T. brasiliensis*, espécie restrita e mais espalhada, e de outros triatomíneos que ali ocorrem (*P. megistus* e *T. maculata*), talvez seja porque o desenvolvimento inicia-se e prolonga-se pelos meses mais quentes e úmidos, a que corresponde a estação das chuvas (novembro a junho), quando as ninfas jovens são mais abundantes e naquele estádio mais sensíveis à dessecação. Vingadas, nos últimos estádios ou já adultos, suportam bem a secura do ar, a própria temperatura mais elevada favorecendo a evolução das últimas fases, que se verifica à entrada do verão.

Além disso, não se deve recusar a participação de fatôres adaptativos da espécie que encontra nesse meio, aparentemente hostil, condições de sobrevivência e proliferação.

Essa exposição leva-nos a concluir que a secura excessiva do ar não é desfavoravel à evolução do *T. brasiliensis* habitante da zona mais árida do nordeste. Ora, como a umidade relativa nas outras duas zonas fisiográficas, Agreste e Mata, é consideràvelmente mais elevada, seria êsse o fator limitante da dispersão dêsse triatomíneo? É provavel. Isso porque a sua ocorrência na zona do Agreste restringe-se à faixa limítrofe do Sertão, ali onde as condições ecológicas, de transição, assemelham-se às desta zona.

Quanto às duas outras espécies, *T. maculata* e *T. rubrofasciata*, o seu desenvolvimento no domicílio é bastante assemelhado. A entrada do verão marca o fim de um ciclo biológico, com produção de adultos que chega a suplantar a população imatura. A crise verifica-se em setembro, com atividade sexual de tal monta que já em novembro a quantidade de ninfas de *T. rubrofasciata* é maior que a de adultos. No que respeita ao *T. maculata*, só em fevereiro o predomínio das ninfas definitivamente se instala.

Espécie litorânea e da zona da Mata, a evolução do *T. rubrofasciata* processa-se em ambiente úmido e quente, antagônico daquele em que vive o *T. brasiliensis*. Setembro marca o início do verão (estação quente e sem chuvas), quando ocorre a última muda e verifica-se a atividade sexual, consideravel, com oviposição abundante, de tal sorte que já em novembro ocorre predomínio de ninfas, acentuado em dezembro e mantido até o fim do novo ciclo.

Essas observações demonstram que o estádio adulto das espécies *T. brasiliensis, T. maculata* e *T. rubrofasciata* ocorre na estação mais quente do ano, sugerindo, igualmente, que só há uma geração anual de cada uma dessas espécies, caracterìsticamente de evolução lenta.

Êsse estudo da evolução natural dos nossos triatomíneos domiciliares, corrobora, também, a conclusão que tiramos ao apreciar a ação de certas condições ecológicas sôbre a ocorrência e dispersão das nossas espécies. Nesse trabalho (Lucena, 1959) dizíamos que o *P. megistus* é uma espécie euritérmica e eurihígrica, isto é, que vive sob condições extremas de temperatura e de umidade, dessa adaptação possìvelmente sobrevindo a sua maior e mais freqüente capacidade de procriar. Ao contrário disso, *T. brasiliensis* e *T. rubrofasciata,* estenotérmicos e estenohígricos, porém o primeiro "xérico" e o último "hígrico", têm mais limitada aquela atividade biológica que se acentua na estação mais quente do ano.

SUMÁRIO E CONCLUSÕES

As 4 principais espécies de triatomíneos ocorrentes, em Pernambuco, *P. megistus, T. brasiliensis, T. maculata* e *T. rubrofasciata,* foram estudadas no que diz respeito à freqüência relativa de adultos e ninfas capturados no domicílio, assim como buscou-se co-relacionar o seu desenvolvimento biológico com alguns fatôres ecológicos. Sem o intuito de tirar conclusões definitivas, os seguintes nos pareceram os principais fatos a ressaltar:

1. O desenvolvimento de *P. megistus* é distinto do das outras 3 espécies. O daquele triatomíneo é caracterizado pela existência de maior número de formas jovens durante todo ano, na proporção global de 2:1, isto é, 66,16% de ninfas e 33,84% de adultos.

2. Há indicação de que o *P. megistus* produz mais de uma geração anual, provavelmente três, com elevação numérica de adultos em março, julho e dezembro, que nunca é superior, nem igual, ao de ninfas.

3. Espécie adaptada às mais variadas condições ecológicas, euritópico, euritérmico e eurihígrico, o *P. megistus* aparentemente furta-se ou, melhor, resiste às vicissitudes do meio, proliferando com mais freqüência e em maior número, donde a constância do predomínio das formas jovens.

4. O *T. brasiliensis* é uma espécie de evolução lenta. As formas jovens preponderam durante 7 meses do ano, de dezembro a julho; em agôsto brus-

camente eleva-se o número de adultos, mantendo-se o predomínio até novembro. Interpretamos essa inversão profunda na curva de freqüência, com rutura do equilíbrio populacional mantido durante 7 meses, significando o término de um ciclo evolutivo, que se processou lento, anual.

5. O final do ciclo biológico do *T. brasiliensis* coincide com a época mais quente do ano, a despeito de reinarem, permanentes, condições favoráveis de temperatura. No Sertão, seu habitáculo preferencial, o clima é quente e sêco.

6. As outras duas espécies, *T. maculata* e *T. rubrofasciata,* têm evolução análoga. O predomínio de formas jovens vai até setembro, quando as curvas se cruzam, indicando a eclosão numerosa de adultos que, pela atividade sexual, oviposição e desalagamento subseqüentes, asseguram nova predominância de formas jovens no mês seguinte (*T. rubrofasciata),* ou dois meses após (*T. maculata).*

7. Tanto uma quanto outra espécie produz uma só geração anual que se inicia na entrada do verão, em setembro ou outubro.

8. De u'a maneira geral, a estação mais quente do ano propicia a atividade sexual dos triatomíneos em Pernambuco e, provàvelmente, no Nordeste, quando se completa o ciclo biológico de 3 das 4 espécies estudadas (*T. brasiliensis, T. maculata, T. rubrofasciata)* e acelera-se o desenvolvimento da outra *(P. megistus).*

SUMMARY

Adults and nymphal stages of the four principal Triatomine vectors of Chagas' disease in Pernambuco — *P. megistus, T. brasiliensis, T. maculata* and *T. rubrofasciata,* were captured, counted separately and referred to the months in which they were obtained, for purpose of determining their relative prevalence in houses, as a base for a comprehensive knowledge of the biological development of the species in natural conditions.

The following are the main conclusions we intended to emphasize.

1. The life cycle of *Panstrongylus megistus* is distinct from that of the other species. There is a permanent higher number of nymphs of that species during the whole year, prevailing in the rate of 2:1; the annual relative incidence of the two stages was of 66.16 per cent of young forms and 33.84 per cent of adults.

2. It is suggestive the increasing number of adults in March, July and December, despite not surpassing the nymphs, probably signifying the existence of more than one generation per year, perhaps three (Table 1; fig. 2).

3. Adapted to the most varying ecological conditions, eurytopic, eurythermal and euryhygric, *P. megistus* becomes, as a consequence, more prolific and more numerous, thence the prevalence of young forms throughout the year.

4. *Triatoma brasiliensis* is a one-year life cycle species. Its evolution is slow. Nymphal stages are predominant during seven months, from December to July; in August suddenly adults become more numerous and stay so until November. This crossing in the curve registered in the fig. 1, is believed to signify the end of a life cycle developed slowly during one entire year.

5. *T. brasiliensis* is a species restricted to the drier and warmer physiographical zone of Northeast States of Brasil, known as "Sertão". Despite favourable conditions of development be permanent there, the end of its life cycle agrees with the warmer months.

6. Regarding the other two species, not only *T. maculata* but also *T. rubrofasciata* are one-year life cycle species. In both of them the prevalence of nymphal stages comes up to September when, the biological cycle accomplished, the number of adults becomes higher followed by sexual activity, oviposition and hatching; then young forms prevail again in the next month (*T. rubrofasciata*) or two months after (*T. maculata*). Both species are believed to be one-year life cycle's starting in warmer months: September-October.

8. As a general conclusion, the warmer season of the year is favourable to sexual activity of the Triatominae in Pernambuco and, probably, in the Northeast States of Brasil. By this time the life cycle of three of the species studied is accomplished (*T. brasiliensis, T. maculata* and *T. rubrofasciata*) and the period of development of the other is shortned (*P. megistus*).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Dias, E., 1955, Variações mensais da incidência das formas evolutivas do *T. infestans* e do *P. megistus* no município de Bambuí, Estado de Minas Gerais. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 53 (2-4):457-472.

Lucena, D. T., 1957, Epidemiologia da Doença de Chagas em Pernambuco. I — Distribuição geográfica dos Triatomíneos. *Rev. Bras. Malariol. D. Trop.*, 9 (4):537-552.

Lucena, D. T., 1959, Ecologia dos Triatomíneos do Brasil. Resumo dos trabalhos apresentados ao Congresso Internacional sôbre Doença de Chagas, pp. 55-56, Rio de Janeiro.

Rev. Brasil. Biol., 20 (2) : 205-216
Setembro, 1960 — Rio de Janeiro, Gb.

EXPERIMENTAL STUDIES ON POPULATION PHYSIOLOGY. I. RESPIRATORY METABOLISM ON BRAZILIAN SIBLING SPECIES OF THE "WILLISTONI" GROUP OF "DROSOPHILA" [1]

J. A. PETERSEN
Instituto de Ciências Naturais, Pôrto Alegre, Rio Grande do Sul

(With 12 text-figures)

Most of the work upon insect metabolism has been done on those insects which because of their size offer convenient objects for experiment, or on those of economic importance. The significance and use of *Drosophila* as a genetic and ecological material on population studies has made it desirable to obtain special information concerning the physiology of different species. In spite of the fact that *Drosophila* does not readily lend itself to such a work, a number of investigations have been made on its metabolism.

Preliminary work of Clare (1925) showed that a close approach to a knowledge of metabolism in *Drosophila* pupae cannot be made if sole dependence is placed on weight of respiring tissues as a guide. Pupal weights showed a correspondence with the trends of the metabolic rates, but for some particular matings, especially when the larvae were maintained at lower temperatures, this correspondence was largely lost. Rates of oxygen consumption were very irregular and varied in a manner highly suggestive of the influence of environmental agencies.

Poulson (1935) established a difference in gas exchange between male and female pupae of *Drosophila melanogaster*, rates of oxygen consumption and carbon dioxide production per unit weight being greater in males than in females.

Dobzhansky & Poulson (1935) measured rates of oxygen consumption by pupae of *Drosophila pseudoobscura* at 25°C and at 14°C. The total oxygen consumption per unit dry weight was of the same order of magnitude at the

[1] Received for publication January 30, 1960.

temperatures studied, oxygen consumption appearing to be higher in male than in female pupae.

Orr (1937) verified that the oxygen consumption of vestigial females and males, as well as that of wild females and males, drops off rapidly under conditions of complete starvation. He observed that the initial high oxygen consumption of the adults just after emergence corresponds to the high oxygen consumption at the end of the pupal period. The differences in oxygen consumption rates of the three types of flies studied followed this order: vestigials greater than the wilds and the wilds greater than the hybrids, flies being kept under as nearly identical conditions as possible. Regardless of the conditions of starvation or of full feeding, there was a difference between the sexes as evidenced by differences in their rates of oxygen consumption, females having a higher rate than the males, at the times studied.

Ellenby (1939) studying *Drosophila* prepupae noticed differences in oxygen consumption between males and females and between the wild type and the vestigial mutant, which could be, however, explained by the correspondent differences of size. Further experiments by the same author in 1945 showed that with a gradual increase of body weight, the prepupal oxygen consumption of *Drosophila melanogaster* decreases, but on the basis of surface area of the puparium it shows no variation.

Chadwick & Gilmour (1940) by means of a very ingenious apparatus studied respiration during flight in *Drosophila repleta,* the oxygen consumption being considered in relation to the wing rate. The comparison of the results then obtained with those reported previously indicated that the bulk of the evidence does not support the claim that extremely large increases in the rate of respiration occur during flight, this increase being of the order of 13 times the resting value.

Continuous volumetric measurements of oxygen consumption and conductimetric measurements of carbon dioxide production were made by Chadwick (1947) at 20°C on individual specimens of *Drosophila americana* and *Drosophila virilis:* before flight, during flight to exaustion and after flight. During flights the rate of oxygen consumption averaged 14 times the previous resting rate; variable rates of respiration were observed after flight.

Acknowledgments — The author is profoundly indebted to prof. C. P. Jaeger for his constant help, interest and suggestions. He is under special obligations to prof. P. Sawaya and E. G. Mendes for valuable criticisms on experimental data, and to prof. C. Pavan and A. B. da Cunha, who not only suggested part of the problem to be studied but also kindly contributed with the stocks of experimental flies. The Rockefeller Foundation and the Conselho Nacional de Pesquisas contributed financially to this project.

MATERIALS AND METHODS

Stocks of wild *Drosophila willistoni* from Morungava, *D. paulistorum* from Sepé and *D. equinoxialis* from Tefé were used in our studies. The last two stocks were kindly sent to us by prof. A. B. da CUNHA from the University of São Paulo. For detailed information on the distribution of the *willistoni* sibling group, see BURLA *et alii* (1949) and DOBZHANSKY (1957).

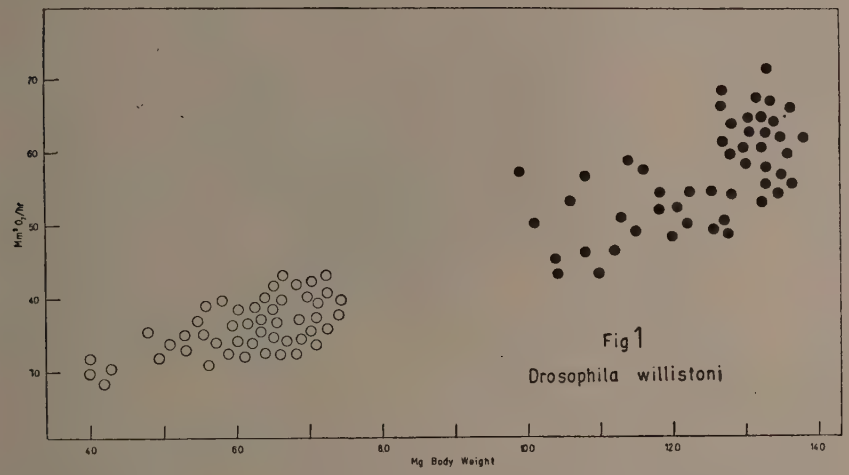


Fig 1
Drosophila willistoni

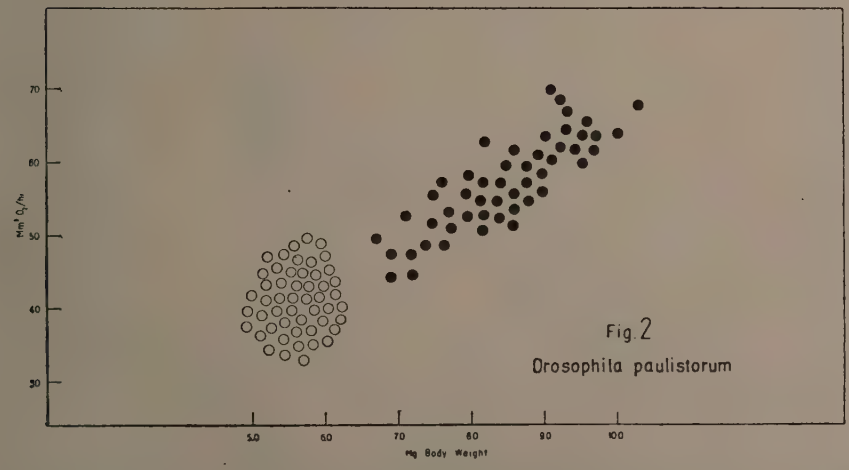


Fig. 2
Drosophila paulistorum

The stock flies were cultured in the laboratory at room temperature (22 to 27°C) in quarter liter milk bottles and fed the banana-agar mixture most often used by geneticists and other people working with these animals. In order to obtain the experimental animals, usually 10 to 12 males and an

equal number of females were kept in a culture bottle for the necessary number of hours to assure the laying of about 100 eggs, this number being a limited in order to avoid crowding and also to provide a plentiful food supply for the growing larvae. The pupae developed normally in all respects; by observing the time at which the flies emerged, flies of known age, in hours, were isolated and kept in marked culture tubes with the banana-agar mixture

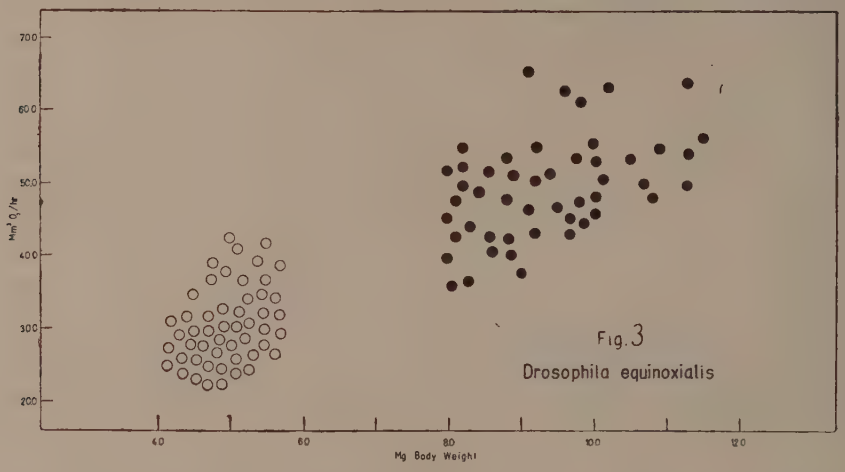


Fig. 3
Drosophila equinoxialis

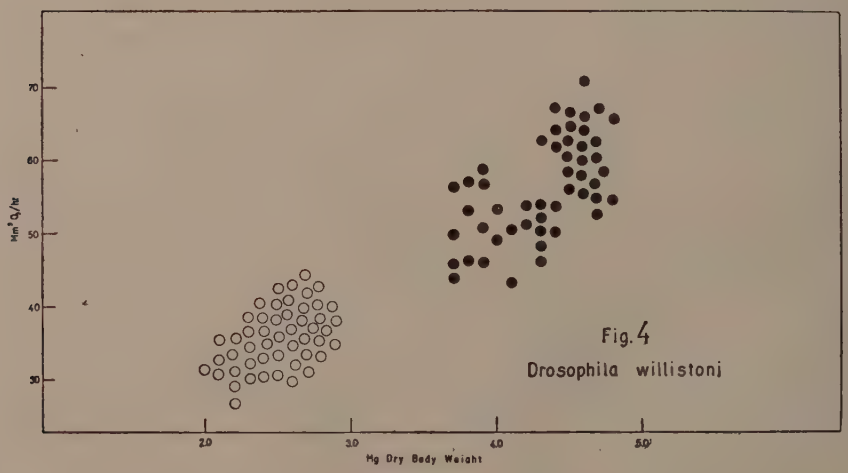


Fig. 4
Drosophila willistoni

and an ample supply of yeast. All these processes were developed in an incubator kept at 25°C; a tray with water was placed at the bottom of the incubator to prevent any significant desiccation of the flies.

Flies used for a comparison between sexes were obtained generally from the same culture bottle, thus insuring, as much as possible, the same environ-

mental conditions. When this was not possible, flies used for a comparison were collected from cultures which contained banana mixture from the same lot, all being kept under identical environmental conditions. Constant volume microrespirometers (SCHOLANDER & EDWARDS, 1942) were employed to measure oxygen consumption in all the experiments. The apparatus consists essentially of a micrometer burette attached to an oxygen reservoir which connects with

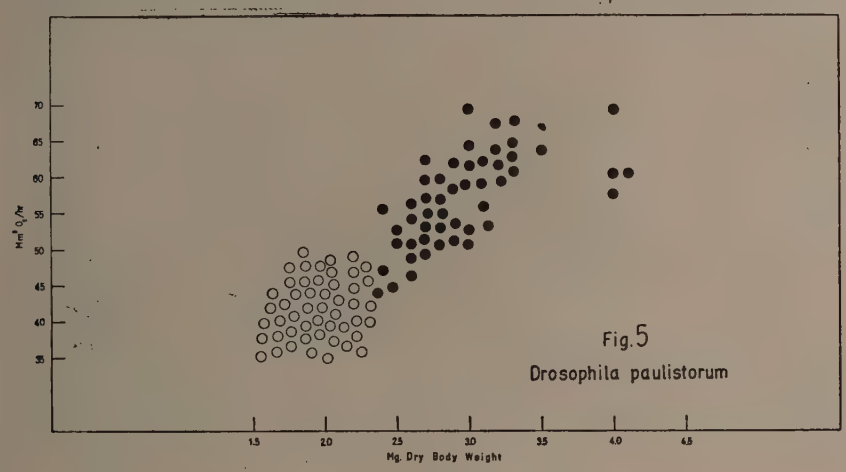


Fig. 5
Drosophila paulistorum

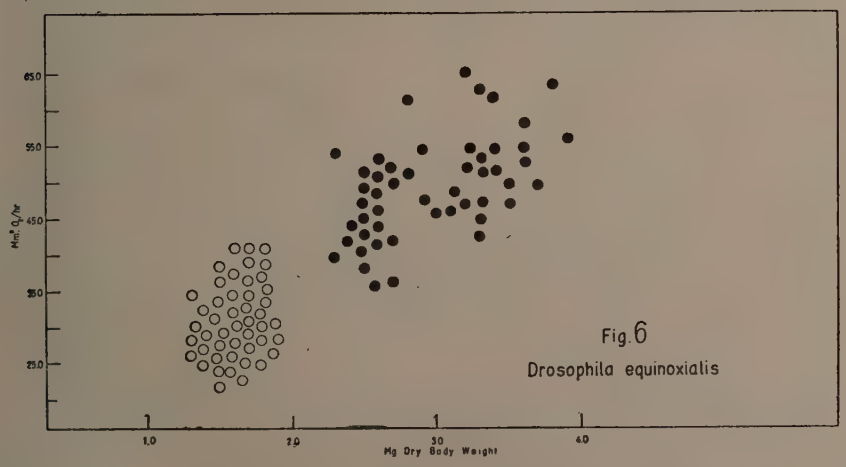
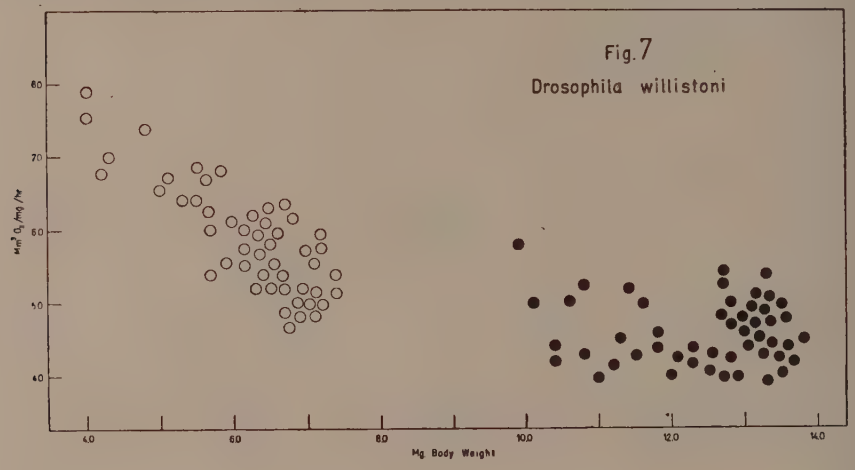


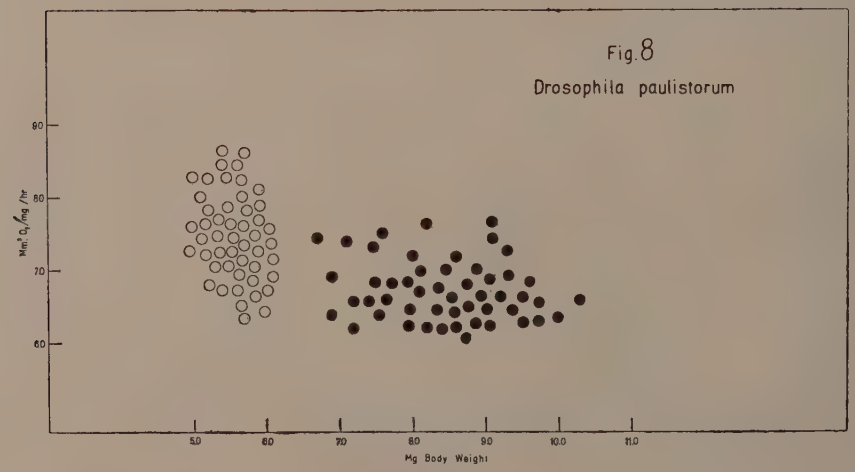
Fig. 6
Drosophila equinoxialis

the experimental flask, a U-shaped manometer and thermobarometer. The oxygen consumed by the organisms is replaced by adjusting the micrometer so that the menisci in the U-tube are leveled. Readings of the oxygen consumption were taken directly from the micrometer at constant intervals. The thermobarometer compensates for external pressure and temperature

fluctuations. The advantages of a microrespirometer of this type for animal metabolism studies have already been discussed (Edwards & Irving, 1943a and 1943 b).

The instruments used in the present study were sensitive to 0,3 mm^3 oxygen consumption per hour. The flask containing the flies was attached to

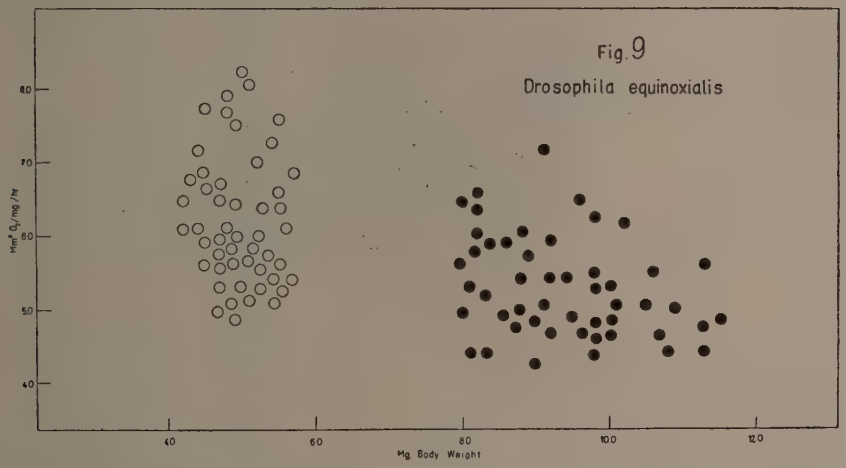


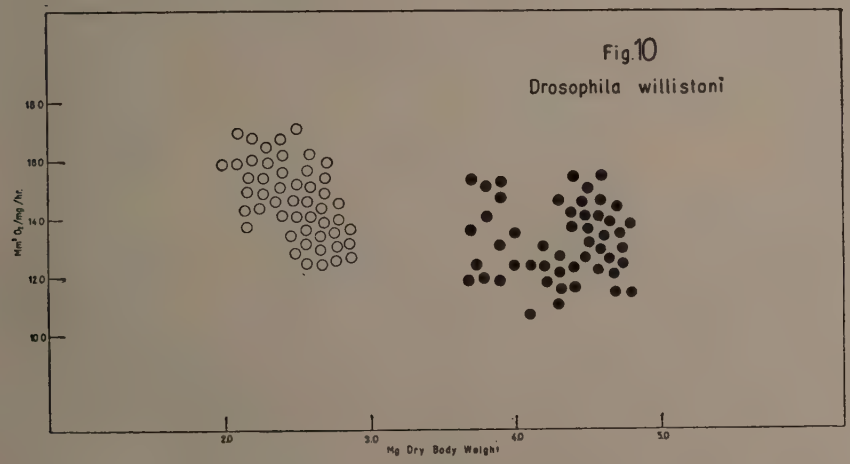


the oxygen port by means of a rubber stopper through which a hypodermic needle passed. The oxygen tension in the experimental flask was kept nearly constant by replacing the oxygen used every few minutes with oxygen from the reservoir. The carbon dioxide produced was absorbed with Ascarite (a commercial sodium hydrate asbestos absorbent) placed in the bottom of the

experimental flask and covered with a layer of absorbent cotton, so that the flies would not come in contact with the Ascarite. Over the flies a second layer of cotton was placed in order to prevent them from wandering around and from flying.

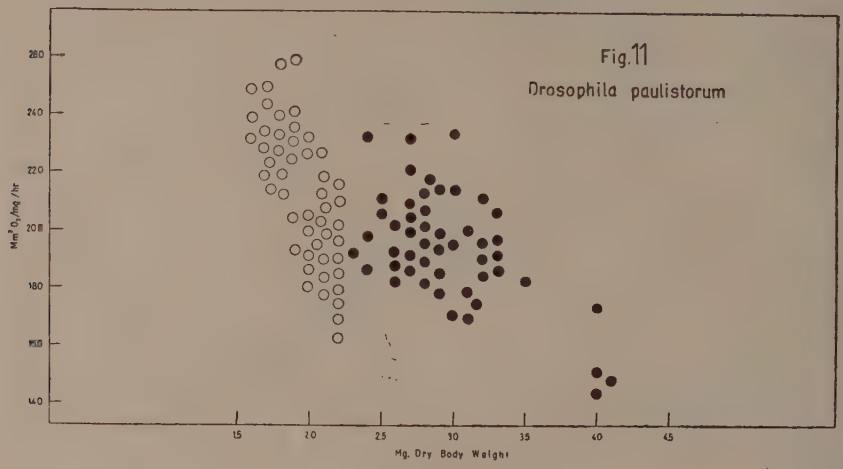
A constant temperature of 25 ± 0;1°C was maintained by immersing the respirometer in a constantly stirred, large thermoregulated water bath. Each

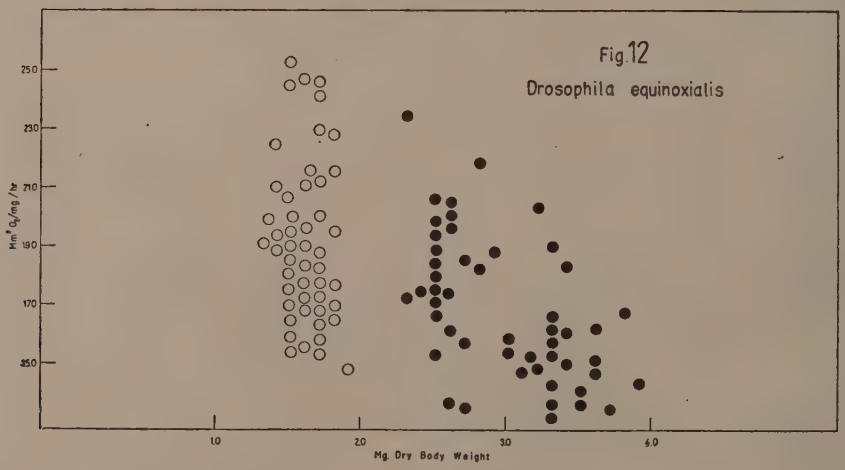




run lasted slightly more than one hour; 15 minutes were allowed for the instruments to come into temperature equilibrium, after which readings were taken every ten minutes during one hour. When a run was completed the flies were removed for both fresh and dry weight determination. Weighings of the flies were made on a chainomatic balance to 0,1 mg. To determine

the dry body weight the flies were dried in an oven at 120°C for 3-4 hours, placed in a desiccator for about one hour and then weighed. Ten flies of the same sex were used in each experiment, all the flies being five days old, as this seems to be the age when complete physiological maturity is achieved.





EXPERIMENTAL RESULTS

Data on the respiratory exchange of the three different species studied are given in Table I, in which the weight of the specimens, both fresh and dry, are also recorded.

As already demonstrated by several authors, in most animals the male has a higher metabolism than the female. In reference to insects, however, this

relationship has not been clearly demonstrated as it has been among the vertebrates.

Observation of the data on Table I and Figs. 1 to 12 seems to show a slight higher oxygen consumption, related to body weight, of the males in relation to the females. The slight differences observed are not, however, statistically significant, in relation both to fresh as to dry body weight in all three different species studied. In the figures males are represented by light and females by dark circles; each circle represents one experiment, in which ten flies were used.

As already stated, no metabolic difference had been found by CLARE (1925) in the two sexes of the wild type *Drosophila melanogaster* pupae. However, on the day after emergence from the pupal state, the female *Drosophila* had a higher oxygen consumption than the male, this difference being possibly due to a greater sexual maturity and organization of tissue in the female than in the male at the time of emergence, as suggested by KUCERA (1934). EDWARDS

TABLE I

	Drosophila willistoni		*Drosophila equinoxialis*		*Drosophila paulistorum*	
	♀♀	♂♂	♀♀	♂♂	♀♀	♂♂
mm^3 O^2/h.	56,73 ± 6,74	35,88 ± 3,24	49,47 ± 6,84	30,72 ± 4,83	57,05 ± 6,30	41,49 ± 3,18
Fresh body weight in mg.	12,39 ± 1,11	6,18 ± 0,88	9,38 ± 1,01	4,87 ± 0,98	8,46 ± 0,88	5,57 ± 0,26
Dry body weight in mg.	4,31 ± 0,33	2,50 ± 0,23	2,97 ± 0,45	1,59 ± 0,13	2,96 ± 0,42	1,96 ± 0,24
QO^2 Fresh body weight.	4,57 ± 0,44	5,88 ± 0,73	5,29 ± 0,68	6,20 ± 0,93	6,74 ± 0,77	7,45 ± 0,58
QO^2 Dry body weight.	13,14 ± 1,27	14,57 ± 1,24	16,84 ± 2,42	19,30 ± 2,91	19,43 ± 1,94	21,31 ± 2,32

Standard deviations calculated according to the formula $S = \sqrt{\frac{\Sigma x^2 - \frac{(\Sigma x)^2}{n}}{n-1}}$

(1946 b) found that in the housefly, *Musca domestica,* ordinarily the male has a higher oxygen consumption than the female. When the females become gravid, however, her oxygen consumption rise quite steeply until just before the eggs are laid, when the rate is as high as in the newly emerged female. In our experiments it is most probable that all females were gravid at the time the oxygen consumption was measured, and this probably accounts for the similarity of results between the two sexes.

It has been observed by several authors that within a given species, at a given temperature, the metabolic rate shows a fairly definite relation with size. In a general way, metabolism per gram of body weight falls off as the insect grows, in such a way that respiration is proportional to the mass of the insect with a fractional exponent, which is usually 0,67 (WIGGLESWORTH, 1953). The fall in metabolic rate with size is therefore sometimes referred to as the "surface law". There seems to be no known reason why the metabolism of cold

blooded animals should bear a relation to the body surface. In many insects, indeed, the oxygen consumption is not proportional to the body surface (KITTEL, 1941) and in the pupae of *Drosophila* in which there is a very close relation between oxygen uptake and surface area, this is regarded merely as a physiological example of the law of allometric growth, which often applies equally to morphological and biochemical data (ELLENBY, 1945).

A series of 25 experiments were done with female specimens of *Drosophila willistoni*, collected in natural populations at Morungava, 150m above sea level, and kept during five days at the laboratory in vials containing the banana-agar mixture and an ample supply of yeast. The results of these experiments, made at 25°C, showed a significant difference in absolute oxygen consumption (40,45) as well as in both fresh and dry body weight, 9,06 and 2,94 mg respectively. Fresh and dry QO^2, respectively 4,47 and 13,83, are, however, almost identical to the values found in *Drosophila* specimens raised in the laboratory.

A series of 20 similar experiments were made at 30°C, which showed very similar results to those obtained at 25°C.

Two series of experiments, 20 with males and 20 with females were performed with flies collected in natural woods at an elevation of more than 900m above sea level, at São Francisco de Paula. Oxygen consumption, measured at 30°C, was 58,74 mm^3/h for the females and 38,61 mm^3/h for the males. Fresh and dry weight were respectively 9,28 and 3,57 mg for the females and 4,39 and 1,95 for the males. Metabolic rates (6,34 and 16,66) for the females and (8,82 and 19,89) for the males showed to be slightly higher than those observed for the flies collected at Morungava, this difference being, however, not significant statistically.

Fifteen experiments were also made using 20 days old females of *D. paulistorum* in order to observe the effect of aging on the metabolic rate of the flies. The oxygen consumption of every ten flies was of the same order (54,47) than that obtained for 5 days old flies. Fresh and dry weights were respectively 9,41 and 3,54 mg, which gave metabolic rates of 5,77 and 15,36, this data suggesting a certain decline of metabolism with progressive aging.

SUMMARY

Using constant volume microrespirometers, measurements were made on the oxygen consumption of three different species (*D. willistoni, D. paulistorum* and *D. equinoxialis*) of the *willistoni* sibling group of *Drosophila*, both with adult flies raised in the laboratory as with flies collected in natural populations, no significant differences being found in their metabolic rates. There seems to be, however, some differences in relation to the QO^2 calculated in relation to the dry weight of the materials studied, specially between *D. willistoni* and *D. paulistorum*.

Slight changes in temperature, of the order of 5°C, seem not to modify appreciably the metabolic rate of adult individuals.

On the other side, old specimens of *Drosophila* seem to present a slight decrease in its metabolic rates.

SUMÁRIO

Usando-se microrespirômetros de volume constante, foram feitas medidas do consumo de oxigênio de três diferentes espécies do grupo crítico *willistoni (D. willistoni, D. equinoxialis* e *D. paulistorum),* tanto de material coletado diretamente da natureza como de material desenvolvido em laboratório, os quais não mostraram diferenças estatìsticamente significativas em suas taxas de metabolismo. Parece haver entretanto pequenas diferenças em relação ao QO^2 quando calculado em relação ao pêso sêco do material utilizado, principalmente entre *D. willistoni* e *D. paulistorum*. Pequenas diferenças de temperatura, da ordem de 5°C, parecem não modificar apreciàvelmente o metabolismo de indivíduos fisiològicamente adultos. Por outro lado, indivíduos de idade relativamente avançada parece apresentarem uma diminuição em sua taxa de metabolismo.

REFERENCES

Bodine, J. H. & Orr, P. R., 1925, Physiological studies on respiratory metabolism. *Biol. Bull. Wood's Hole,* 48 : 1-14.

Burla, H., Brito da Cunha, A., Cavalcanti, A. G. L., Dobzhansky, Th. & Pavan, C., 1950, Population density and dispersal rates in Brazilian Drosophila willistoni. *Ecology,* 31 (3) : 393-404.

Chadwick, L. E., 1947, The respiratory quotient of Drosophila in flight. *Biol. Bull.,* 93 : 229-239.

Chadwick, L. E. & Gilmour, D., 1940, Respiration during flight in Drosophila repleta Wollaston: The oxygen consumption considered in relation to the wing-rate. *Physiol. Zool.,* 13 : 398-410.

Clare, M. R., 1925, A study of the oxygen metabolism in Drosophila melanogaster. *Biol. Bull.,* 49 : 440-460.

Csik, L., 1939, Resistance of Drosophila to oxygen want. *Z. vergl. Physiol.,* 27 : 304-310.

Dobzhansky, Th., 1957, Genetics of natural populations, XXVI. Chromosomal variability in island and continental populations of Drosophila willistoni from Central America and the West Indies. *Evolution,* 11 (3):280-293.

Dobzhansky, Th. & Poulson, D. F., 1935, Oxygen consumption of Drosophila pupae. II. Drosophila pseudoobscura. *Z. vergl. Physiol.,* 22 : 473-478.

Edwards, G. A., 1946a, Temperature and oxygen consumption. *J. Cell. Comp. Physiol.,* 27 : 53-64.

Edwards, G. A., 1946b, Tracheal permeability of Drosophila larvae. *Quart. J. Florida Acad. Sci.,* 9 : 41-45.

EDWARDS, G. A. & IRVING, L., 1943b, The influence of season and temperature upon the oxygen consumption of the sand crab, Emerita talpoida Say. *J. Cell. Comp. Physiol.*, 21 : 169-182.

EDWARDS, G. A., & IRVING, L., 1943b, The influence of season and temperature upon the oxygen consumption of the beach flea, Talorchestia megalothalma. *J. Cell. Comp. Physiol.*, 21 : 183-189.

ELLENBY, C., 1945, Oxygen consumption of prepupae of Drosophila melanogaster Meigen, in relation to the surface area of the puparium. *J. Exp. Biol.*, 21 : 41-45.

KALMUS, H., 1937, Oxygen tension and duration of development in Drosophila pupae *Z. vergl. Physiol.*, 24 : 409-412.

KITTEL, A., 1941, Metabolism and body size. *Z. vergl. Physiol.*, 28 : 533-562.

KUCERA, W. G., 1934, Oxygen consumption in the male and female fly, Drosophila melanogaster. *Physiol. Zool.*, 7 : 449-458.

MENDES, E. G., 1953, Metabolismo, tamanho e latitude. *Ciência e Cultura*, 5 (1) : 13-18.

NORTHROP, J. H., 1926, Carbon dioxide production and duration of life of Drosophila cultures. *J. Gen. Physiol.*, 9 : 319.

ORR, P. R., 1925, A critical thermal increment for oxygen consumption of an insect, Drosophila melanogaster. *J. Gen. Physiol.*, 7 : 731-734.

ORR, P. R., 1937, Physiological studies on respiratory metabolism. *Physiol. Zool.*, 10 : 235-243.

POULSON, D. F., 1935, Oxygen consumption of Drosophila pupae. I. Drosophila melanogaster. *Z. vergl. Physiol.*, 22 : 466-472.

ROEDER, K. D., 1953, *Insect Physiology*, John Wiley, New York.

SCHOLANDER, P. F. & EDWARDS, G. A., 1942, Volumetric microrespirometers for aquatic organisms. *Rev. Sci. Instr.*, 13 : 292-295.

TAYLOR, I. R., 1927, Oxygen consumption of individual pupae during metamorphosis. *J. Morphol.*, 44:313-318.

WIGGLESWORTH, V. B., 1949, Metabolism during flight and starvation in Drosophila. *J. Exp. Biol.*, 26 : 150-163.

WIGGLESWORTH, V. B., 1953, *The principles of insect physiology*. Methuen, London.

Rev. Brasil. Biol., 20 (2) : 217-221
Setembro, 1960 — Rio de Janeiro, Gb.

SÔBRE "RAMPHOTRIGON MEGACEPHALA" (SWAINSON) (Tyrannidae, Aves) [1]

FERNANDO C. NOVAES
Departamento de Zoologia, Secretaria da Agricultura, S. Paulo

(Com uma figura no texto)

Dos numerosos tiranídeos que habitam o Brasil conta-se *Ramphotrigon megacephala* (Swainson) entre as espécies pouco conhecidas quanto a distribuição geográfica, figurada em 1841 por SWAINSON, sob o nome de *Tyrannula megacephala,* como proveniente do Brasil, sem ter sido contudo designada uma localidade tipo restrita. Em 1856, BURMEISTER descreveu a espécie fundamentado na estampa colorida de SWAINSON, indicando a Bahia como localidade tipo. NATTERER (cf. PELZELN, 1871) colecionou dois exemplares na localidade de Mata-dentro, próximo a Taubaté, Estado de São Paulo, em dezembro de 1819, sendo registrados em seu catálogo manuscrito com o nome de *Muscicapa ciliata.* PELZELN identificou-os como pertencentes a *Rhynchocyclus megacephalus* (Swainson), gênero criado em 1859 por CABANIS & HEINE.

O estudo realizado por HELLMAYR (1903) das espécies de *Rhynchocyclus* depositadas no Museu de Viena, permitiu a êste autor ver os dois exemplares pertencentes à coleção de NATTERER, dando-nos então pela primeira vez uma descrição pormenorizada da espécie, que era sòmente conhecida pela figura colorida da obra de SWAINSON e a descrição de BURMEISTER.

Em 1913, BERTONI noticiou a ocorrência de *R. megacephala* no Paraguai, Puerto Bertoni, Alto rio Paraná. Foi DABBENE (1918) quem notificou a ocorrência da espécie na Argentina, com base em um exemplar colecionado por MOGENSEN em rio Segundo, Alto Paraná, Misiones, em dezembro de 1917.

Na revisão das formas do gênero *Rynchocyclus,* efetuada por CORY (1919), êste autor limitou-se a traduzir para o inglês a descrição de HELLMAYR, por não possuir exemplares da espécie em foco.

Ao elaborar seu Catálogo, HELLMAYR (1925) criou um novo gênero, *Tolmomyias,* o qual inclui *Tyrannula megacephala* Swainson, entre outras espé-

[1] Recebido para publicação a 6 de junho de 1960.

cies. Nesse trabalho HELLMAYR chama atenção para a relação entre *Tolmomyias megacephalus* e *Tolmomyias sulphurescens*, esta considerada até então a espécie mais próxima.

A revisão de ZIMMER (1939), elaborada com abundante material das espécies dos gêneros *Tolmomyias* e *Rhynchocyclus*, exclui *Tyrannula megacephala* dêsses dois gêneros, colocando-a em *Ramphotrigon*, proceder êste acatado pela maioria dos ornitólogos.

Possuindo o Departamento de Zoologia 5 exemplares de *R. megacephala* de localidades ainda não registradas na literatura, damos abaixo a bibliografia sôbre a espécie, bem como sua distribuição geográfica atualmente conhecida.

Agradecimento — O autor agradece ao Dr. A. WETMORE, da Smithsonian Institution, pela determinação do espécime do Território do Acre.

Ramphotrigon megacephala megacephala (Swainson)

Tyrannula megacephala Swainson, 1841: pl. 47 — Brasil.

Muscipeta megacephala Burmeister, 1856: 487 — Bahia.

Rhynchocyclus megacephalus Cabanis & Heine, 1859: 56 — Brasil; Pelzeln, 1871: 110 — Mattodentro, São Paulo; Hellmayr, 1903: 203 — Mattodentro, São Paulo; Bertoni, 1913: 55 — Puerto Bertoni, Paraguai; Dabbene, 1918: 194 — rio Segundo, alto Paraná, Misiones, Argentina; Cory, 1919:220 (localidades de Hellmayr, 1903).

Tolmomyias megacephalus Hellmayr, 1927: 281 — Mattodentro, São Paulo, Brasil. Argentina, Eldorado; Rio Segundo.

R[amphotrigon] m. megacephala Zimmer, 1939: 21, Minas Gerais, Pico da Bandeira. Argentina, Puerto Segundo.

Diagnose — Difere das outras espécies do género *Ramphotrigon* pela presença nos lados do píleo de uma faixa parda enegrecida sobreposta à estreita linha superciliar amarelo oliváceo; dorso oliva escuro; secundárias com faixas ocráceas formando duas barras nítidas; mandíbula inferior com a ponta escura e base amarelada.

Distribuição geográfica — Leste do Brasil, nos Estados de Minas Gerais (Pico da Bandeira), Rio de Janeiro (serra do Itatiaia), São Paulo (próximo a Taubaté). Argentina (Misiones, Rio Segundo, Eldorado). Paraguai (Puerto Bertoni).

Ramphotrigon megacephala boliviana Zimmer

Ramphotrigon megacephala boliviana Zimmer, 1939: 17 — Mision San Antonio, Rio Chimoré, Provincia de Cochabamba, Bolivia, alt. 1300 ft; Bond & Schauensee, 1944: 349 — Chiñiri, Bolivia: Gyldenstolpe, 1945: 215 — Victoria, Rio Beni, Bolivia.

Diagnose — Semelhante a *R. m. megacephala*, porém com o peito de côr ocrácea mais profunda: ausência das estrias escuras supra-oculares; raquis das penas do píleo pardo enegrecido: amarelo da fronte mais claro.

Distribuição geográfica — Bolívia (Rio Chimoré, Rio Beni). Brasil (Território do Acre, Rio Juruá).

COMENTÁRIOS

O gênero *Ramphotrigon* consta de 3 espécies: *Ramphotrigon ruficauda* (Spix), *Ramphotrigon fuscicauda* Chapman e *Ramphotrigon megacephala* (Swainson).

Ramphotrigon ruficauda e *R. fuscicauda* são espécies tipicamente da Região Amazônica, sendo *ruficauda* de distribuição mais vasta, pois é encontrada praticamente em tôda a hiléia. *R. fuscicauda* é conhecida no oeste da hiléia (Rio Napo, Rio Beni).

Fig. 1 — Distribuição geográfica de *Ramphotrigon megacephala* (Swainson).

Ramphotrigon megacephala era assinalada até 1939 sòmente no sudeste do Brasil, norte da Argentina e região adjacente do Paraguai. ZIMMER (1939) ao descrever a subespécie *boliviana* estendeu para o oeste da América do Sul a área geográfica da espécie, notificando-a pela primeira vez na Amazônia.

R. megacephala é uma espécie do interior da mata virgem. O exemplar do Acre por nós colecionado se encontrava na mata da várzea.

A atual distribuição descontínua de *R. megacephala* reflete uma distribuição mais extensa no passado.

A explanação de MOOJEN (1948), para a distribuição dos ratos do gênero *Proechimys,* é bastante significativa elucidando em parte a atual distribuição de *R. megacephala*. MOOJEN supõe que durante o pleistoceno, o Brasil Central foi coberto por uma floresta tropical, a qual desapareceu antes dos tempos recentes devido a várias causas. Atualmente, a floresta tropical úmida do sudeste do Brasil é separada da floresta Amazônica por extensa zona de savana do Brasil Central. Assim, é fàcilmente compreensível que as formas que necessitam um meio ambiente úmido ficaram isoladas no sudeste e noroeste do Brasil. A raridade da espécie, em número de indivíduos, possìvelmente indica que a atual distribuição das raças geográficas de *R. megacephala* restringe-se a áreas relictas.

EXEMPLARES EXAMINADOS

Ramphotrigon megacephala megacephala

			asa	*cauda*	*culmen*	*tarso*
36.359	♂	Parque Nacional do Itatiaia, km 12, alt. 1600 m, Lima col. 28-1-1954	59,7	54,2	11,1	15,2
36.158	♂	Parque Nacional do Itatiaia, Lima col. 12-9-1953	63,0	58,0	11,5	15,6
34.442	♂	Parque Nacional do Itatiaia, Maromba, Lima col. 2-8-1950	65,2	58,2	11,1	15,7
34.210	♀	Parque Nacional do Itatiaia, km 6, alt. 1230 m, Lima col. 8-12-1949	58,5	53,2	11,5	14,7

Ramphotrigon megacephala boliviana

42.722	♀	Acre, Rio Juruá, Seringal Oriente, próximo à Vila Taumaturgo, Moreira & Novaes col. 25-8-1956	62,3	59,0	11,5	15,7

SUMMARY

A review of the geographic distribution of the Large-headed flat-bill *(Ramphotrigon megacephala)* is presented. New localities are recorded to the geographic area of the species. *R. m. boliviana,* from Bolivia, is recorded for the first time in the brazilian territory. Comments on geographic distribution of the species are given.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERTONI, A. W., 1913, Fauna Paraguaya, Catalogos sistematicos de los vertebrados do Paraguay: 31-66.

BOND, J. & SCHAUENSEE, R. M., 1941, The Birds of Bolivia. Part. I. *Proc. Acad. Nat. Sci. Phila.*, 94:307-391.

BURMEISTER, H., 1856, *Systematische Uebersicht der Thiere Brasiliens.* II, x + 426 pp., Berlin.

CORY, C. B., 1919, The relationships and geographical distribution of the species and races belonging to the genus *Rhynchocyclus*. *Proc. Biol. Soc. Wash.*, 32:217-224.

CABANIS, J. & HEINE, F., 1859, *Museum Heineanum*, 2:viii + 220 pp.

DABBENE, R., 1918, Captura de algunas especies raras de Aves neotropicales. *Hornero*, 1:194-195.

GYLDENSTOLPE, N., 1945, A contribution to the Ornithology of Northern Bolivia. *Kl. Svensk. Vet. Akad. Handl.*, 23 (1):1-300, 1 pl.

HELLMAYR, C. E., 1903, Uber neue und wenig bekannte südamerikanische Vögel. *Verh. Zool. Bot. Gessel. Wien*, 53:199-223.

HELLMAYR, C. E., 1927, Catalogue of Birds of the Americas and the adjacent Islands. *Field Mus. Nat. Hist. Publ.*, 242, *Zool. ser.*, 12 (5):vi + 517 pp.

MOOJEN, J., 1948, Speciation in the Brazilian spiny rats (Genus Proechimys, Family Echimyidae). *Univ. Kans. Publ. Nat. Hist.*, 1 (19):301-406.

PELZELN, A., 1871, *Zur Ornithologie Brasiliens.* iv + 462 pp., Wien.

SWAINSON, W., 1841, *Birds of Brasil and Mexico*. 78 plates.

ZIMMER, J. T., 1939, Studies of Peruvian Birds No. 33. The genera Tolmomyias and Rhynchocyclus with further notes on Ramphotrigon. *Amer. Mus. Novit.*, 1045:1-23.

Rev. Brasil. Biol., 20 (2): 223-236
Setembro, 1960 — Rio de Janeiro, Gb.

CRÍTICA BIBLIOGRÁFICA

LES ISOTOPES RADIOACTIFS, 1959, Rapports au XXXIIe Congrès français de Médecine (Lausanne, 1959), 116 pp., 29 figs., Masson & Cie., Paris.*

Nestes últimos 10 anos de pesquisas médico-biológicas, os isótopos radioativos, se afirmaram definitivamente como auxiliares inestimáveis e quase indispensáveis, na investigação dos processos metabólicos gerais e da fisiologia celular. No terreno semiológico, os radioisótopos, vão se fazendo também cada vez mais úteis, a medida que novos elementos são satisfatòriamente testados, na definição diagnóstica de inúmeras doenças, enquanto que as práticas terapêuticas, especialmente no domínio do câncer, não mais os dispensam atualmente.

Da amplitude do emprêgo de átomos radioativos e da freqüência observada na sua aplicação, na clínica e na pesquisa, dá-nos um bom exemplo, a coletânea de relatórios apresentados neste livro. São em número de 7 os relatórios apresentados, assim intitulados:

1) Radioisotopes artificiels en médecine et applications biologiques de l'iode radioactif — J. Roche et R. Michel.

2) Étude du métabolisme des électrolytes chez l'homme à l'aide des radioisotopes — G. Milhaud, E. Loiseau et C. Nagant de Deuxchaisnes.

3) Histoautoradiographie et métabolisme cellulaire des acides nucléiques (ADN et ARN) — M. Chevremont, J. Brachet et H. Firket.

4) L'exploration des voies biliaires par les dérivés iodés marqués — A. Chevallier.

5) L'emploi des radio-isotopes dans la recherche hématologique — G. Hemmeler.

6) De la protection contre l'irradiation et du traitement de ses effects — J. M. Loiselle.

7) Application de la cinétique de l'épuration sanguine d'un complexe protéinique radiomarqué à l'étude de la fonction phagocytaire du système réticulo-endothélial et du flux sanguin hépatique chez le sujet normal et le sujet cirrhotique — B. N. Halpern, G. Biozzi, B. Delaloye, G. Péquignot, C. Stiffel et D. Mouton.

---

* Oferta dos Editôres Masson & Cie.

O primeiro relatório trata extensamente da bioquímica, da função tireoidiana, estudada essencialmente com a técnica do radiocromatograma de hidrolizados enzimáticos de produtos tireoidianos. Esta técnica foi sobremodo importante na caracterização de um novo hormônio tireoidiano, a 3-3-diiodotironina (T_2).

Pelo menos 4 ácidos aminados iodados integram a tireoiglobulina, possuindo atividade biológica múltipla e diversa. Os principais efeitos que determinam são a elevação do metabolismo de base, aceleração do rítmo cardíaco, inibição da secreção do hormônio hipofisário tireotrópico e estimulações da metamorfose nos batráquios. Os 4 hormônios diferem entre si principalmente na intensidade de sua ação. De um modo geral T_3 (tri-iodo-tironina) é 3 a 10 vêzes mais ativo que T_4 (tetra-iodo-tironina). T_3 é desprovido de efeito antibocígeno e na metamorfose.

A associação da eletroforese em papel e da autoradiografia é outra técnica que tem fornecido preciosas informações sôbre o metabolismo dos hormônios tireoidianos.

O relatório seria mais útil se uma detalhada descrição das técnicas empregadas e referidas acima fôsse incluida no texto.

A dinâmica do metabolismo dos eletrolitos é outro setor até aqui inacessível à observação e estudo direto, que vem sendo investigado modernamente com o auxílio dos radioisótopos. Milhaud e cols. em seu relatório dão-nos uma visão panorâmica, das trocas e constantes renovações dos componentes minerais do meio interno, em condições normais e patológicas. Chevremont e cols. apresentam relatório sôbre historadiografia e metabolismo celular. Provàvelmente em nenhum outro setor da pesquisa biológica, tem os radioisótopos um papel tão relevante a desempenhar. Se há algum método operacional que vai permitir revelar os segredos da fisiologia celular êste é sem dúvida o que emprega o radioisótopo e as técnicas correlatas da autoradiografia. Os autores sumarizam os conhecimentos até aqui acumulados, sôbre a dinâmica dos processos de síntese e transporte, dos ácidos nucleicos na interfase e na mitose. Sobremodo interessante é a informação de que substâncias antimitóticas, como o Myleran (1-4-dimetilsulfonoxibutano) marcadas com tritium, estão sendo empregadas, por Chevremont e seu grupo para investigar seu mecanismo de ação.

O emprêgo dos radioisótopos e da autoradiografia tem sido decisivo para demonstrar, 1) que a síntese de DNA e RNA, se processa principalmente no núcleo, 2) que o RNA citoplasmático é pelo menos em parte de origem nuclear e 3) que o citoplasma anucleado conserva durante um certo tempo a capacidade de sintetizar RNA e proteinas.

A eliminação de corantes marcados (di-iodo-fluoresceina) pelas vias biliares foi estudado, por Chevalier, mostrando-se a técnica de um maior rigor nos resultados que outros métodos convencionais até aqui empregados.

A cinética da função eritropoiética, a síntese da hemoglobina, a hemólise *in vivo,* e o metabolismo do ferro, são outros aspectos fundamentais da biologia dos metazoários, parcialmente desvendados através a utilização dos radioisótopos e tratados no 5.º relatório. Demonstrou-se, por exemplo, entre outras coisas, que a hemoglobina pode ser sintetizada *in vitro,* na ausência de células vivas, desde que estejam presentes no meio, microsomas de reticulócitos, ficando também evidenciado, com o emprêgo do Fe 59, que o órgão que destrói as hemátias envelhecidas, é essencialmente a medula óssea e não o baço. Êste último só participando ativamente da hemólise em casos patológicos. Loiselle discute resumidamente no 6.º relatório os prováveis mecanismos, através os quais a administração de células hematopoiéticas, protege animais irradiados. O autor sugere que um mecanismo humoral, estimulando o sistema hematopoiético do animal irradiado e uma verdadeira colonização de células do doador, correm paralelas e são responsáveis pelo aumento da taxa de sobreviventes. O ecletismo do autor não acrescenta, assim, nada ao conhecimento do problema, já que não demonstrou ou isolou o fator humoral estimulante e constatou o que já é bem conhecido, como a colonização de células do doador.

Utilizando um complexo proteico marcado com I-131, Halpern e cols. estudaram o fluxo sanguíneo hepático e a atividade fagocitária do S.R.E. Seus resultados são extremamente interessantes, já que demonstraram uma diminuição ligeira da velocidade do fluxo sanguíneo total do fígado cirrótico e, sobretudo, uma diminuição pronunciada da velocidade da circulação sinusoidal do fígado cirrótico, quando comparada com a normal, diminuição esta devida, como já se suspeitava, ao estabelecimento anômalo de anastomoses porto-cava intra-hepáticas. Sendo a circulação sinusoidal, aquela fisiològicamente significativa, compreende-se que um retardamento da mesma, tenha repercussões desfavoráveis na função do órgão.

A extensa gama de assuntos tratados nestes relatórios, dá-nos uma mostra da versatilidade dos radioisótopos no que se refere a sua utilização, na pesquisa biológica. A simplicidade das técnicas e métodos envolvidos no seu emprêgo e a riqueza de informações que propiciam, sem dúvida já transformaram os radioisótopos na ferramenta de eleição, para o estudo dos processos vitais.

O livro que acima comentamos, para qualquer leitor, engajado na pesquisa biológica, será estimulante e fornecerá certamente um sem número de sugestões de projetos de pesquisas. Para o leitor brasileiro, em especial, impossibilitado de valer-se das técnicas ali referidas (a maioria dos nossos Institutos de pesquisa biológica ainda não "descobriram" os radioisótopos), a leitura dêstes relatórios, deixará ao seu final uma indisfarçável sensação de frustração.

J. P. Guimarães.

DAWKINS, M.J.R. & REES, K.R., 1959, A BIOCHEMICAL APPROACH TO PATHOLOGY. VII + 128 p., figs., Edward Arnold, London.*

A patologia fundamenta-se no estudo da célula e de seu metabolismo em condições de anormalidade. Durante muito tempo a célula foi estudada sob o ponto de vista puramente estático, isto é, morfológico. As modificações na constituição das células e tecidos foram sendo correlacionadas com os estádios patológicos em que apareciam essas modificações. Predominaram então as idéias de VIRCHOW, que instituiu o estudo da célula como a base para tôda a patologia.

Outra corrente de idéias viu nos distúrbios humorais a causa principal das doenças orgânicas. Tanto uns como outros estavam com a verdade; do entrosamento de ambas as correntes nasceu a patologia pròpriamente dita.

Mais recentemente, com os enormes progressos obtidos com o emprêgo de métodos físicos e químicos ao estudo da célula, surgiu uma nova citologia que é a citoquímica, calcada na bioquímica de que faz parte integrante.

Os processos gerais da patologia celular começaram então a serem analisados à luz da citoquímica e o estudo do metabolismo celular constituiu caminho seguro para a interpretação das perturbações que ocorrem na intimidade da célula. As manifestações do trabalho celular (mecânico, osmótico, elétrico, térmico) são dependentes da adenosina trifosfato (ATP) e os processos que tendem a modificar a série de reações enzimáticas em que o ATP toma parte, devem ser estudados nesse sentido. A síntese de proteínas e outras substâncias do protoplasma, sendo perturbada por processos patológicos, vai resultar em modificações no crescimento celular como a cancerização, a necrose e a degeneração do citoplasma. Todos êsses processos estão sendo estudados com métodos bioquímicos que têm procurado desvendar o seu mecanismo íntimo.

A infra estrutura celular revelada pela microscopia electrônica e a análise das partículas constitutivas da célula levaram, tanto o citologista como o patologista, a encarar os processos metabólicos celulares no sentido dinâmico. O conhecimento das mitocôndrias como micrò elementos celulares, de organização própria, onde se armazena tôda a energia da célula, foi outro ponto de importância capital no estudo da ação de drogas e venenos sôbre o metabolismo dos tecidos. O conceito de *"lesão bioquímica"* lançado por R. PETERS baseia-se justamente no rompimento de uma cadeia de reações enzimáticas produzindo sérios desvios metabólicos, como acontece em certas deficiências de vitaminas (beriberi) ou no envenenamento pelo fluoro-acetato. A ação de tóxicos e de drogas deve ser devida, em muitos casos, a mecanismo semelhante.

A monografia de DAWKINS & REES estuda os aspectos modernos da citologia patológica baseiada no estudo bioquímico dos mecanismos e das causas que os modificam. Os AA. seguem as idéias modernas da escola inglesa de

* Oferta do Conselho Britânico.

CAMERON que mostrou ser a célula doente séde de processos bioquímicos, semelhantes aos da célula normal, sòmente desviados ou exagerados, conforme o caso em questão. O título do livro está plenamente justificado pela orientação que segue na seqüência dos capítulos. Os dois primeiros capítulos são dedicados à bioquímica e estrutura fina da célula e os demais quatro à bioquímica nas deficiências nutritivas, à ação de tóxicos, aos processos de cancerização e à genética bioquímica.

Bem que o livro seja sòmente um ensaio nesse campo fascinante da patologia, os AA. souberam muito bem reunir com clareza e síntese as relações entre a bioquímica celular e os processos patológicos que têm origem na célula.

O livro consta dos seguintes capítulos: 1) Metabolismo celular; 2) Organização subcelular; 3) Sistemas-modelos em patologia; 4) Agentes tóxicos em patologia humana; 5) Estados de deficiência; 6) Genes, enzimas e doença e 7) Modificações bioquímicas no crescimento. Segue-se pequena bibliografia selecionada.

A Biochemical Approach to Pathology é bem ilustrado e muito bem impresso o que torna a sua leitura agradável e instrutiva, recomendando-se a todos aquêles interessados em problemas de biologia e patologia celular.

Gilberto G. Villela.

BRØNDSTED, H. V., 1959, L'AGE ATOMIQUE ET NOTRE AVENIR BIOLOGIQUE. 90 p., Masson & Cie. edit., Paris.*

Em pequeno volume, BRØNDSTED, professor de Zoologia da Universidade de Copenhague, desenvolve com felicidade, sob forma elevada de divulgação científica, um dos temas empolgantes da atualidade: a ação biológica da radiação atômica e as ameaças que o aproveitamento, mesmo o pacífico, das fôrças do átomo poderá representar para a saúde do homem e, principalmente, para o futuro genético da raça humana.

O livro é vasado em linguagem simples. A terminologia científica menos vulgar — empregada, aliás, com parcimônia — é acompanhada de explicações que a tornam compreensível ao leitor não especializado. Nos primeiros capítulos são apresentadas algumas noções de física e de biologia necessárias à compreensão do tema principal.

Ressente-se a clareza do texto — e disso não escapam as melhores obras do gênero desta — da dificuldade ou, talvez, da impossibilidade de exposição adequada, em têrmos vulgares, de fatos e de teorias científicas complexas. Tentando vencer a dificuldade, apela o autor, como recurso de expressão, para comparações. O recurso é perigoso. Não sendo possível traçar-lhe os limites exatos de validade, a comparação pode induzir, no leitor menos avisado, idéias e raciocínios falsos.

* Oferta dos Editôres Masson & Cie.

O tom do trabalho é, em geral, pessimista. Chega-se ao final da leitura com a impressão de que — apesar dos intensos estudos em andamento em grandes centros de pesquisa especializada — será possível e, mais do que possível, provável, que a utilização em larga escala da energia nuclear venha a processar-se antes que se conheçam todos os efeitos biológicos próximos e remotos das radiações e antes que se possuam processos seguros de proteção dos seres vivos contra essas radiações.

O autor alcança, com o livro considerado, o seu objetivo. Dá, ao leitor não afeito ao assunto, consciência das graves situações a que, na idade atômica, se expõem o homem e seus descendentes, e, dessa forma, interessa-o vivamente nas providências que de alguma forma possam ser tomadas no sentido de se prevenirem ou atenuarem tais situações.

Tito Cavalcanti.

HARRIS, H., 1959, HUMAN BIOCHEMICAL GENETICS. VIII + 310 p., 69 figs., Cambridge University Press.*

A genética humana progrediu ràpidamente nos últimos anos, transformando-se de uma simples catalogação de doenças hereditárias em um dos mais importantes e desenvolvidos campos da genética.

Um dos fatôres de progresso na genética humana foi a associação da bioquímica com a genética. As bases genéticas dos fenômenos bioquímicos que se passam nos seres vivos são mais conhecidas no caso do homem do que no caso de qualquer outro animal. Só em *Neurospora* e alguns microorganismos conhece-se êsse assunto melhor do que no homem.

O mais brilhante testemunho do estádio avançado da genética bioquímica humana é o livro de HARRIS, obra prima de clareza e de síntese. Trata-se da atualização de monografia publicada em 1953, que na sua época foi o que havia de mais completo sôbre o assunto. Pode-se ter uma idéia do ritmo do processo na genética bioquímica humana comparando as referências bibliográficas das duas monografias. O trabalho de 1953 apresenta uma lista bibliográfica de 223 títulos, enquanto o livro, publicado 6 anos depois, conta com uma bibliografia de 501 trabalhos!

HARRIS inicia o seu livro por dois capítulos de introdução sendo o segundo, onde os conceitos básicos da genética de população são apresentados, especialmente útil para bioquímicos e médicos, que em geral conhecem os princípios da genética formal, mas não tanto os da genética de populações.

Nos sete capítulos seguintes são analisadas as várias formas de reações bioquímicas aberrantes que têm bases genéticas conhecidas. Há dois capítulos sôbre aberrações do metabolismo dos aminoácidos, seguidos de capítulos que tratam das variações no metabolismo dos carbo-hidratos, sôbre as das hemoglobinas humanas, sôbre as das substâncias responsáveis pelos grupos sanguíneos, e sôbre as das proteinas do plasma sangüíneo. Segue-se um capítulo em

* Oferta do Conselho Britânico.

que se estudam as formas aberrantes do metabolismo não classificáveis nos capítulos anteriores. No último capítulo é discutido o problema da ação gênica.

Cada capítulo é iniciado por uma introdução em que se apresenta o aspecto geral e normal das reações metabólicas que vão ser analisadas. Depois, as várias formas aberrantes de metabolismo são analisadas em detalhe segundo um excelente plano. Inicialmente é apresentado um histórico da descoberta da anomalia com a descrição das suas várias características. Segue-se uma análise da natureza bioquímica e fisiológica da anormalidade. Finalmente a análise é completada pela apresentação dos dados genéticos.

Quando os aspectos bioquímicos ou os genéticos têm relações com fenômenos gerais, HARRIS discute essas relações tornando o seu livro de grande interêsse não só para os bioquímicos e os geneticistas que trabalham em problemas humanos e para os médicos, mas também para todos os geneticistas e bioquímicos. Assim quando as várias formas de hemoglobina são analisadas, apresentam-se também dados sôbre a distribuição racial dessas hemoglobinas e faz-se uma excelente análise do fenômeno do polimorfismo. Quando os grupos sangüíneos são estudados, uma análise sintética é feita das bases químicas da especificidade das substâncias responsáveis pelos vários grupos.

Uma pessoa, não especialista no assunto, ficará maravilhada vendo quanto se conhece de genética bioquímica no homem e quantos problemas de interêsse geral existem nesse campo, em que não se poderia desejar um guia melhor do que HARRIS.

A única crítica adversa que faço é que o autor, na minha opinião, deveria discutir detalhadamente o problema da individualidade do homem à luz da genética e da bioquímica, realizando uma síntese entre os inúmeros dados por êle apresentados e os da escola bioquímica de ROGER J. WILLIAMS.

A apresentação do livro, como é da tradição da Cambridge University Press, é excelente e o preço bem razoável.

O livro de HARRIS deve ser entusiàsticamente recomendado a todos os geneticistas, bioquímicos e médicos que, tenho a certeza, encontrarão na sua leitura inúmeros fatos interessantes e de grande importância, por mais variados que sejam os campos em que trabalhem.

A. Brito da Cunha.

BELL, P. R., edit., 1959, DARWIN'S BIOLOGICAL WORK, SOME ASPECTS RECONSIDERED, XIII+343 p., 49 figs., 5 pls., Cambridge University Press.*

O livro é uma das numerosas obras que vêm sendo publicadas desde 1958 em comemoração ao centenário da "The Origin of Species" de DARWIN. Além da sua contribuição aos estudos da evolução, DARWIN realizou trabalhos básicos em vários campos da história natural. Foi um grande geólogo e paleontólogo.

* Oferta do Conselho Britânico.

Realizou trabalhos pioneiros sôbre os movimentos das plantas, sôbre a biologia das plantas com flôres, analisando os efeitos da fecundação cruzada e da auto-fecundação, e sôbre a polinização das orquídeas. Foi um dos precursores dos estudos das comunicações entre os animais com o seu livro sôbre a expressão das emoções no homem e nos animais. Publicou uma grande monografia sôbre a sistemática de crustáceos. Fêz contribuições originais até ao estudo de solos analisando o papel das minhocas na sua dinâmica. Os colaboradores do livro editado por BELL se propuzeram a analisar as contribuições de DARWIN em vários campos da biologia experimental e a descrever os principais desenvolvimentos posteriores nesses campos.

O livro é composto de 6 ensaios. "O movimento das plantas em resposta à luz", por P. R. BELL; "Paleontologia e evolução", por J. CHALLINOR; "Seleção Natural", por J. B. S. HALDANE; "Desenvolvimentos no estudo da comunicação entre animais", por P. MARLER; "Fecundação cruzada e auto-fecundação nas plantas", por H. L. K. WHITEHOUSE; e finalmente "Buffon, Lamarck e Darwin: a originalidade da teoria da evolução de DARWIN", por J. S. WILKIE.

Como se vê o livro é extremamente heterogêneo. Os vários ensaios foram escritos em completa independência e a única relação entre êles é que DARWIN fêz trabalhos importantes sôbre os vários assuntos. Dificilmente um mesmo leitor estará interessado em mais de dois ou três dos ensaios apresentados.

Alguns artigos são brilhantes, como os de HALDANE e de MARLER, outros são positivamente aborrecidos. Mesmo os capítulos melhores são revisões muito incompletas. O próprio MARLER, autor de um dos dois melhores ensaios, deixa de lado todo o problema do papel da comunicação na diferenciação das raças e das espécies. Os trabalhos de SPIETH em drosófila e de BLAIR em anfíbios são completamente ignorados. No capítulo de WILKIE, um dos mais cacetes do livro, EISELEY, autor de pesquisas históricas da maior importância sôbre os precursores de DARWIN, nem sequer é mencionado. No capítulo sôbre fecundação cruzada e auto-fecundação nas plantas o problema da heterose, de importância capital, é tratado de maneira extremamente deficiente. As contribuições de grande importância para a compreensão da heterose feitas por DOBZHANSKY, BRIEGER e CROW são ignoradas pelo autor. No capítulo sôbre os movimentos das plantas em resposta à luz as importantes contribuições de FERRI não são mencionadas. Essas são omissões importantes, encontradas por quem não é especialista nos vários assuntos tratado no livro. Quantas importantes omissões a mais encontrará um especialista?

Resumindo, os vários assuntos tratados são muito pouco relacionados. Cada leitor terá interêsse só por um ou outro ensaio e sôbre o assunto de seu interêsse encontrará revisões muito melhores em outras obras. Trata-se de um livro perfeitamente dispensável que, quando muito, poderá ser recomendado para bibliotecas de instituições científicas. A esperança do editor quando declara: "Our hope are the same as Darwin's whe he submitted the manuscript

of the "The Origin of Species": the book *ought* to be popular with a large bag of scientific and semi-scientific readers", me parece pretenciosa e totalmente infundada.

A. Brito da Cunha.

WADDINGTON, C. H., edit., 1959, BIOLOGICAL ORGANISATION, CELLULAR AND SUBCELLULAR, Proceedings of a Symposium organised on behalf of Unesco, Univ. Edinburgh, Scotland, Sept. 1957, XVIII + 328 p., 83 figs., Pargamon Press, London. *

A grande produção científica atual torna cada vez mais necessária a elaboração de obras de síntese. O livro editado por WADDINGTON é um modêlo de síntese. WADDINGTON, financiado pela UNESCO, reuniu em Edimburgo, sob a sua direção, geneticistas, citologistas, cancerologistas, embriologistas, biofísicos, bioquímicos e fisiologistas, para discutirem problemas da organização biológica nos níveis celular e subcelular. Nessa reunião, cada um dos eminentes cientistas convidados apresentou um apanhado geral sôbre temas escolhidos, assim como um resumo dos seus trabalhos referentes ao assunto. A essa apresentação seguiram-se discussões em que todos os participantes tomaram parte. A organização prévia, feita por WADDINGTON, permitiu que a apresentação das várias contribuições, assim como as discussões, fôssem feitas com a maior eficiência. Todo o simpósio foi gravado e depois editado pelo organizador.

Graças à liderança e à organização de WADDINGTON, ao alto nível científico dos participantes e à maneira perfeita como são reproduzidas as apresentações e as discussões, "Biological Organization" é uma obra de síntese magnífica, que apresenta, ao lado do interêsse científico, um interêsse humano especial. Cada um dos participantes do simpósio aparece vivo nas discussões, com seu estilo próprio, com seu espírito e temperamento característicos. Em vez de trabalhos isolados escritos em estilo impessoal de comunicação científica, tem-se perfeitamente entrosadas, como um todo, várias contribuições em que a personalidade dos vários cientistas é fàcilmente perceptível. O leitor do livro sente-se presente à interessantíssima reunião de Edimburgo. A maneira como o simpósio e o livro foram organizados me parece a mais eficiente e interessante possível. Esperemos que o exemplo de WADDINGTON seja seguido e que simpósios organizados como êste sejam cada vez mais freqüentes.

O livro começa com uma introdução que é a reprodução de texto enviado antes da reunião a todos os participantes explicando a finalidade do simpósio.

O primeiro capítulo é dedicado à natureza da organização biológica. Aí WADDINGTON, WEISS e LEHMANN apresentam e discutem os trabalhos de suas escolas sôbre o assunto.

O segundo capítulo, sôbre a organização no nível gênico, é iniciado por uma apresentação do problema por PONTECORVO, seguida por detalhada expo-

* Oferta do Conselho Britânico.

sição de BRENNER sôbre os resultados obtidos pela escola de Cambridge na análise da organização química e física do gen. PLAUT, de Wisconsin, também contribui com os resultados que obteve com a aplicação de auto-radiografia na reprodução cromossômica.

Dos mais interessantes é o terceiro capítulo — organização cromossômica — em que as contribuições principais são de CALLAN, de BEERMANN e de PAVAN. É motivo de grande satisfação e orgulho ver que, apesar das grandes dificuldades ambientais, cientistas brasileiros ocupam posição de destaque internacional, apresentando trabalhos que sobressaem mesmo em reuniões seletas como a de Edinburgo. CALLAN analisa nesse capítulo a estrutura e o comportamento de cromossomos plumulosos de anfíbios, PAVAN e BEERMANN descrevem resultados obtidos na análise da fisiologia cromossômica e funcionamento gênico.

O quarto capítulo é dedicado às interações funcionais entre o núcleo e o citoplasma, nêle se destacando WADDINGTON, BRACHET, PLAUT e WEISS com seus trabalhos em anfíbios, em *Acetabularia* e em células nervosas.

A organização morfológica do núcleo e do citoplasma é o assunto do quinto capítulo. GAY, descrevendo as estruturas que participam na transferência de materiais dos cromossomos para o citoplasma e a maneira como êsses processos são realizados nas células das glândulas salivares de *Drosophila melanogaster* e SJOSTRAND, fazendo um apanhado geral dos conhecimentos sôbre a ultra-estrutura da célula, são os principais contribuintes dêsse capítulo.

No capítulo seguinte, sôbre as atividades do citoplasma, BEALE discute as partículas responsáveis pela herança citoplasmática em *Paramecium*, HOLTZER, a síntese de proteínas estudada na miogênese por meio de anticorpos fluorescentes e GUSTAFSON, o papel das enzimas mitocondriais no desenvolvimento dos ovos de ouriço do mar.

O sétimo capítulo é iniciado por brilhante exposição das idéias de WADDINGTON sôbre a organização química da célula, título do capítulo. A seguir DEAN explica as tentativas que estão sendo feitas em Oxford para aplicar as leis cinéticas a vários aspectos do comportamento bacteriano. PAUL WEISS, um dos participantes mais interessantes da reunião, apresenta depois as conclusões sôbre a organização da célula a que chegaram, êle e KAVANAU, pela aplicação de análises matemáticas e biológicas em estudos de crescimento, de regeneração de fígado e de hipertrofia de rim. Após WEISS, POLLOCK analisa em detalhe o fenômeno da indução de enzimas, especialmente a síntese de penicilinase em *B. cereus*.

O capítulo oito intitula-se "Interações tissulares: indução embrionária". Êsse capítulo é uma excelente oportunidade para se entrar em contacto com os resultados mais recentes das escolas de WILDE, de NIEUWKOOP, de TOIVONEN, de WADDINGTON e de BRACHET.

No capítulo seguinte, "A organização dos tecidos em órgãos", os principais contribuintes são ZWILLING, com estudos do desenvolvimento de membros,

NIEUWKOOP, com trabalhos sôbre a regeneração de pernas em Axolotl, e sôbre a organização do sistema nervoso em *Triturus alpestris*.

Os estudos da diferenciação e da proliferação celular no mixomiceto *Physarum polycephalum* apresentados por RUSCH e a análise de tumores por BERENBLUM são os principais objetos do décimo capítulo, "A organização dos processos de crescimento".

O último capítulo é dedicado à análise da divisão celular e é quase inteiramente dominado por MITCHISON e por DAN que apresentam aí interessantíssimos trabalhos.

Em todos os capítulos a discussão é contínua, viva e entusiasta. Como se pode ver, muitos assuntos são tratados no Simpósio. Todavia a integração foi perfeita, resultando um livro de grande unidade e de leitura apaixonante e viva. A UNESCO e WADDINGTON estão de parabens. A UNESCO por ter escolhido WADDINGTON para organizar e liderar a reunião. WADDINGTON, pelo sucesso do simpósio e do livro, pelos magníficos trabalhos apresentados pela sua escola e pelo brilho das suas intervenções e de sua liderança nas discussões.

"Biological organization, cellular and sub-cellular" merece ser lido por todos os biologistas e serve como um modêlo de como simpósios devem ser organizados e editados.

A. Brito da Cunha.

LEDERER, E., 1960, CHROMATOGRAPHIE EN CHIMIE ORGANIQUE ET BIOLOGIQUE, v. II, t. IIII: Applications de la chromatographie en chimie biologique, XIV + 876 p., figs., Masson et Cie., Paris.*

No prosseguimento das publicações das "Monographies de Chimie Organique" encontra-se o tomo III, dedicado exclusivamente às aplicações da cromatografia em Química Biológica.

São tratados isoladamente em capítulos sucessivos os seguintes assuntos: açúcares, ésteres fosfóricos, compostos com enxôfre, esteróis e esteróides com as substâncias próximas, lipídeos, derivados dos ácidos aminados, proteinas, purinas e pirimidinas com seus derivados, pigmentos não nitrogenados, pigmentos nitrogenados, vitaminas lipo-solúveis, vitaminas hidrossolúveis, hormônios nitrogenados e, finalmente, antibióticos.

Pela simples enumeração das matérias tratadas se evidencia a amplitude da obra, o que aliado à meticulosa indicação de farta bibliografia, a torna excelente auxiliar no campo do ensino e da pesquisa.

Se alguma coisa pode ser destacada neste bom conjunto, mencionaríamos os capítulos referentes aos esteróis e aos amino-ácidos, onde a ampla contribuição da literatura científica foi ordenada e concisamente apresentada, oferecendo informações objetivas sôbre as técnicas.

Ao estudar os esteróis deram os autores cuidadosa atenção na parte de cromatografia em papel, às condições de execução, analisando influências de

* Oferta dos Editôres Masson & Cie.

solventes, da qualidade do papel de filtro, das técnicas e aparelhagem. Os reveladores também são apresentados individualmente, com uma crítica do seu emprêgo e as soluções mais adequadas.

Por fim, os métodos quantitativos e especiais contêm informações inclusive da bibliografia mais recente, em forma de tabelas que permitem um rápido assenhoramento do assunto. O final do capítulo é uma interessante apreciação da relação entre a estrutura química dêstes compostos e o seu comportamento cromatográfico.

No capítulo dos amino-ácidos e peptídeos a exposição ainda é eminentemente objetiva, a partir da análise do modo de preparar as amostras para os exames.

Os diversos recursos cromatográficos são sucessivamente indicados, mas merece referência a parte da utilização das substâncias de troca iônica (resinas permutadoras), que é estudada desde a evolução do seu emprêgo até as técnicas particulares para cada composto. É uma parte excelente dêste capítulo, que termina com um resumo dos métodos de isolamento de peptídeos com a Amberlita IR C-50, entre êles o ACTH, ocitocina e outros.

O livro com as características excelentes, tradicionais de Masson et Cie., é mais um tomo nas "Monographies" tão úteis aos que estudam a Química Orgânica e Biológica.

Humberto Cardoso.

HOWARTH, W. O. & WARNE, L. G. G., 1959,
PRACTICAL BOTANY FOR THE TROPICS.
238 p., figs., Univ. Press, London. *

Os autores observam a carência de bons manuais de Botânica para o ensino nos trópicos e cuidam preenchê-la com o que oferecem. Na verdade, fazem-no apenas parcialmente por que a matéria tratada só inclui princípios de anatomia e fisiologia, além de que as plantas selecionadas são, em sua mór parte, asiáticas. Ficam, por conseqüência, excluidas as regiões neotropicais, a sistemática, etc.

Feita essa restrição, com certeza os estudantes ficarão bem servidos, pois os autores usam linguagem simples e precisa, sabendo escolher os paradigmas com propriedade.

O livro é destinado aos colégios e cursos universitários iniciais. Divide-se em 28 pequenos capítulos, cada um proporcionando o essencial de forma clara. Mas, em todos os casos o apêlo fundamental é para o recurso ao material: deve ser usado diante das preparações e experimentos indicados.

Sem dúvida, êsse caráter essencialmente prático é de grande importância, porquanto compreende-se as vantagens do aprendizado concreto. Contudo, não custaria nada que algumas páginas a mais fôssem adicionadas em benefício de maior extensão da organografia, tratada mui por alto, e dos princípios

* Oferta do Conselho Britânico.

básicos da sistemática — duas disciplinas que alicerçam o estudo e a prática da biologia.

Em apêndices, serão encontradas indicações úteis raramente aparecendo em livros. De maneira que, dentro do âmbito delimitado pelos autores, é um manual digno de consideração e que por certo será bem recebido pelos destinatários.

Carlos Toledo Rizzini.

ANDRÉ THOMAS, J., edit., 1959, PROBLEMES D'ULTRASTRUCTURES ET DE FONCTIONS NUCLÉAIRES. Exposés Actuels de Biologie Céllulaire. 222 p., 67 figs. Masson & Cie. edit., Paris.*

A divulgação dos resultados da pesquisa científica tem começado a preocupar sèriamente não só os cientistas ativamente empenhados nos trabalhos como também os planejadores e diretores de organizações científicas. O conjunto de relatórios de trabalhos experimentais que contìnuamente sai dos laboratórios para as publicações especializadas constitui um acêrvo de proporções agigantadas. A leitura proveitosa dêsse copioso material de informação, se bem que do maior interêsse para os especialistas, exige-lhes um espaço de tempo de que êles não podem dispor sob pena de prejuízo do trabalho de laboratório. É por isso olhada, cada vez com maior simpatia, a publicação de revisões. Tais revisões, de caráter mais ou menos amplo, suplementadas por uma bibliografia criteriosa, redigidas por pessoas cabalmente familiarizadas com o tema, constituem um veículo de informações realmente valioso.

O trabalho que o prof. J. André Thomas traz agora a público representa o 5.º da série "Exposés Actuels de Biologie Céllulaire" e contém um resumo substancial de informações que interessarão a um grande número de pesquisadores. O tema tratado corresponde a um dos problemas centrais da biologia: a integração das funções celulares, a correlação entre estrutura e função. O conjunto de trabalhos apresentados vem mais uma vez mostrar que o léxico nocional dos citologistas está a sofrer uma revisão extensa diante das observações recentes sôbre as relações núcleo-citoplásmicas. Quer no plano estrutural (presença de poros na membrana nuclear, reconstituição desta a partir dos elementos do retículo endoplásmico (Baud), quer no plano fisiológico (nucléolo como local de síntese de proteínas e ácido nucléico (Ficq), as influências mútuas do núcleo e do citoplasma nas experiências de enxertos e de regeneração (Glinos) o conceito de individualidade é essencialmente dinâmico. Por outro lado nos presentes estudos é fortemente sublinhada a base macromolecular dos eventos microscópicos e fisiológicos. Os métodos aperfeiçoados de extração dos ácidos nucleicos (Faure), que têm permitido uma extensa análise física e química dêstes compostos (Lenormant), oferecem, juntamente com as observações de microscopia electrônica (Grassé), abundante material

* Oferta dos Editôres Masson & Cie.

para a interpretação dos dados da genética e da fisiologia celular de uma maneira geral.

As contribuições reunidas pelo prof. THOMAS na presente publicação compreendem: C. A. BAUD — Ultrastructure et fonctions de la membrane nucléaire; A. FICQ — La physiologie du nucléole; H. LENORMANT — État physique des desoxyribonucléoprotéines; P.-P. GRASSÉ — Sur l'ultrastructure des chromosomes: H. LENORMANT — Relations entre la structure des desoxyribonucléoprotéines et la structure des chromosomes; J. P. FAURE — L'extraction des acides nucléiques biologiquement actifs: Les acides nucléiques infectieux; A. D. — L'influence des fonctions du cytoplasme sur le noyau pendant la croissance.

F. Torres de Castro.

ROUX. H., 1960 NOTIONS DE RADIOBIOLOGIE,
176 p., 38 figs., Masson & Cie., Paris. *

O livro pretende ser do tipo "Introdução ao estudo de..." e obedece a um estilo expositivo que não cria compromissos conceituais, limitando-se ao registro dos fatos e dados até aqui acumulados na investigação radiobiológica. Nas áreas de controvérsia mais aguda, como a referente ao mecanismo de ação biológica das radiações, discute as correntes de idéias mais em fóco e adota um ecletismo interpretativo com relação às teorias da ação direta e indireta.

Destaca-se êste livro de outros sôbre o mesmo assunto e do mesmo nível primário, pela extensão e relativa profundidade com que trata os aspectos físicos, químicos, dosimétricos e matemáticos do problema radiobiológico. Isto resulta num flagrante desequilíbrio entre esta parte da publicação e aquela onde o autor cuida dos fenômenos radiobiológicos pròpriamente ditos. Enquanto, por exemplo, 10 páginas são consagradas à questão dosimétrica, a discussão e análise da radiosensibilidade celular é esgotada numa única página.

É conspícua a falta de esquemas e gravuras, particularmente nos capítulos dedicados à descrição dos fenômenos celulares e tissulares associados com as radiações e que tanto auxiliam a compreensão do problema. A ausência de um capítulo sôbre a ação das radiações sôbre microorganismos e células *in vitro* é incompreensível num livro que se propõe dar uma idéia geral da questão radiobiológica.

Juntando-se, assim, à lista de publicações sôbre radiobiologia, o livro do Dr. ROUX realmente não lhe acrescenta nada. Para os principiantes parecerá difícil e excessivamente técnico sobretudo na parte inicial. Para os especialistas resultará pobre e insuficiente na sua parte estritamente biológica.

O livro certamente falhará na sua intenção de introduzir o problema radiobiológico, para quem dêle se aproxima pela vez primeira e provàvelmente irá confundir antes de informar. Sua utilidade será limitada a uma consulta eventual sôbre os aspectos físicos e químicos da ação das radiações. É livro para se ter na estante ao lado de muitos outros da mesma especialidade.

Jorge Guimarães.

* Oferta dos Editôres Masson & Cie.